

B. Komp

Frankfurt 9/11 1970

Intestinale Resorption
und
metabolische Veränderung während des Resorptionsvorganges
von
 ^{125}J - (Ipodat-Natrium)
im Jejunum der Ratte

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

vorgelegt beim
Fachbereich Biochemie und Pharmazie
der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

von
Bernd Komp
aus Bochum/Westfalen

Frankfurt am Main

1978



Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Biochemie und Pharmazie
der Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main

Dekan: Prof. Dr. Dr. H. Fasold

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Oelschläger
2. Gutachter: Prof. Dr. Dr. H. Fasold
Prof. Dr. W. Forth, Bochum
Sonderberichterstatter

Tag der mündlichen Prüfung: 25.1.1978

Die vorliegende Arbeit wurde von August 1974 - September 1977 im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Ruhr-Universität Bochum (Direktor: Prof. Dr. W. Forth) nach Abstimmung mit Herrn Prof. Dr. H. Oelschläger, Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main, angefertigt.

Herrn Prof. Dr. W. Forth danke ich für die Themenstellung, für Ratschläge und Hilfe bei der Durchführung der Experimente und die vielen nützlichen Diskussionen bei der Abfassung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H. Oelschläger bin ich für das Interesse, mit dem er den Fortgang der Arbeiten begleitete, verbunden.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

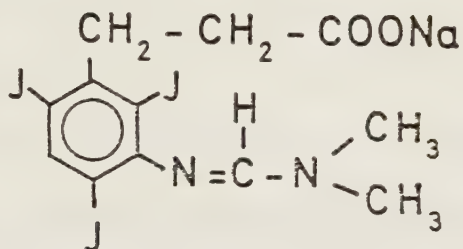
	<u>Seite</u>
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Lösung des Problems	3
2.1. Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) durch die Darmwand und Aufnahme ins Darmgewebe in Abhängigkeit von der Konzentration in vitro nach Wilson and Wiseman	3
2.2. Zeitlicher Verlauf des Durchtritts von ^{125}J -(Ipodat-Na) in vitro nach Wilson and Wiseman	7
2.3. Transfer von ^{125}J -(NaJ) in vitro in Abhängigkeit von der Konzentration nach Wilson and Wiseman	10
2.4. Zeitlicher Verlauf des Durchtritts von ^{125}J -(NaJ) in vitro nach Wilson and Wiseman	12
2.5. Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) in Abhängigkeit von der Temperatur nach Wilson and Wiseman	15
2.6. Untersuchungen zur Metabolisierung des ^{125}J -(Ipodat-Na) während des intestinalen Transfers	17
2.6.1. Bestimmung der Konzentrationsabhängigkeit der metabolischen Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transfers an isoliert durchströmten Jejunumsegmenten nach Fisher and Parsons	18
2.6.2. Bestimmung der Temperaturabhängigkeit der metabolischen Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transports an isoliert durchströmten Jejunumsegmenten nach Fisher and Parsons	22

	Seite
2.6.3. Bestimmung der Temperaturabhängigkeit der metabolischen Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transports an isoliert durchströmten Jejunumsegmenten nach Fisher and Parsons	28
2.6.4. Analyse der ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase	30
2.7. Resorption von ^{125}J -(Ipodat-Na) an abgebundenen Jejunumschlingen in situ	32
3. Diskussion	36
4. Beschreibung der Versuche	50
4.1. ^{125}J -(Ipodat-Na)	50
4.2. Versuchstiere	50
4.3. Bestimmung des Verteilungskoeffizienten von ^{125}J -(Ipodat-Na) bei verschiedenen pH-Werten	50
4.4. Zur Untersuchung der intestinalen Resorption in vitro	52
4.5. Die qualitative und quantitative Analyse von ^{125}J -(Ipodat-Na) und seinen Metaboliten in biologischem Material	63
4.6. Methode zur Untersuchung der Resorption in vivo	68
4.7. Quantitative Glucosebestimmung	69
4.8. Messung der Radioaktivität	69
4.9. Statistische Methoden	69
5. Zusammenfassung	70
6. Literaturverzeichnis	76
7. Tabellenanhang	

1. Einleitung und Problemstellung

Ipodat ist der Inhaltsstoff von jodhaltigen Röntgenkontrastmitteln die vornehmlich oral verabreicht werden und zur Kontrastdarstellung der Gallenwege dienen. Dabei geht man davon aus, daß das Röntgenkontrastmittel gut resorbiert wird und hinreichend große Mengen von der Leber aufgenommen und mit der Galle wieder ausgeschieden werden. Die in den Gallenkapillaren erzielten Konzentrationen müssen so hoch sein, daß sie für einen Kontrastmittel-Effekt ausreichen. Hin und wieder werden bei diesem Vorgehen unter den Bedingungen in der Röntgenpraxis allerdings Versager bei der Kontrastmittel-Darstellung der Gallenwege beklagt. Ganz allgemein gilt die parenterale Verabreichung von Röntgenkontrastmitteln als sicherer für die erwünschten diagnostischen Zwecke.

Ipodate - Na *



Deshalb mußte die Frage geprüft werden, in welchem Umfang Ipodat in Abhängigkeit von der verabreichten Dosis aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert wird, und welches Schicksal Ipodat während des Resorptionsvorgangs erfährt.

* Da beabsichtigt ist, Auszüge der Dissertation in englischsprachigen Fachzeitschriften zu publizieren, sind die Abbildungen zum größten Teil englisch beschriftet.

Bekannt ist, daß diagnostische Methoden zur Beurteilung von Schilddrüsenerkrankungen über Wochen und Monate gestört sind (3, 4).

Diese ärztliche Erfahrung scheint im Widerspruch zu der immer wieder behaupteten nur geringgradigen Dejodierung von Röntgenkontrastmitteln im Organismus zu stehen. Besondere Aufmerksamkeit wurde deshalb in diesen Untersuchungen auch dem Dejodierungsgrad von Iodat während der Darmpassage geschenkt. Schließlich wurde routinemäßig die Auswirkung von Iodat auf physiologische Resorptionsleistungen des Darmes wie z.B. die Wasserresorption und den Bergauf-Transport von Glucose untersucht.

Die Untersuchungen wurden im wesentlichen an isolierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten des Dünndarms von Ratten in vitro durchgeführt. Diese Darmsegmente haben sich als Modelle zur Beurteilung der Resorption von Arzneistoffen vielfältig bewährt. Diese Versuchsanordnung läßt auch die Beurteilung des Schicksals von Arzneistoffen während der Resorption zu und kann somit zur Klärung der Frage herangezogen werden, inwieweit ein Arzneistoff schon während der Resorption chemisch verändert wird. Die in vitro gewonnenen Resultate wurden durch eine Resorptionsstudie von Iodat aus abgebundenen, durchbluteten Segmenten des Dünndarms von Ratten in situ komplettiert.

2. Lösung des Problems

2.1. Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Natrium) durch die Darmwand und Aufnahme ins Darmgewebe in Abhängigkeit von der Konzentration in vitro (Methode nach Wilson and Wiseman)

Um die Konzentrationsabhängigkeit des Durchtritts von ^{125}J -(Ipodat-Na) durch die Darmwand und seiner Aufnahme in das Darmgewebe kennen zu lernen, wurde die Bewegung von ^{125}J -(Ipodat-Na) an evertierten und nicht-evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten (Methode nach Wilson and Wiseman (1)) in einem Konzentrationsbereich von $1,6 \times 10^{-6}$ bis $9,6 \times 10^{-4}$ M geprüft. Das mit Träger vermischte ^{125}J -(Ipodat-Na) wurde zu Beginn des Experiments nur der Außenlösung der Darmpräparate zugesetzt. Die Resultate dieser Versuchsreihe sind zusammen mit den statistischen Parametern in Tabelle 12 zusammengefaßt und in der Abbildung 1 dargestellt.

2.1.1. Transfer durch die Darmwand

2.1.1.1. Versuche an "everted sac"-Präparaten (M→S)

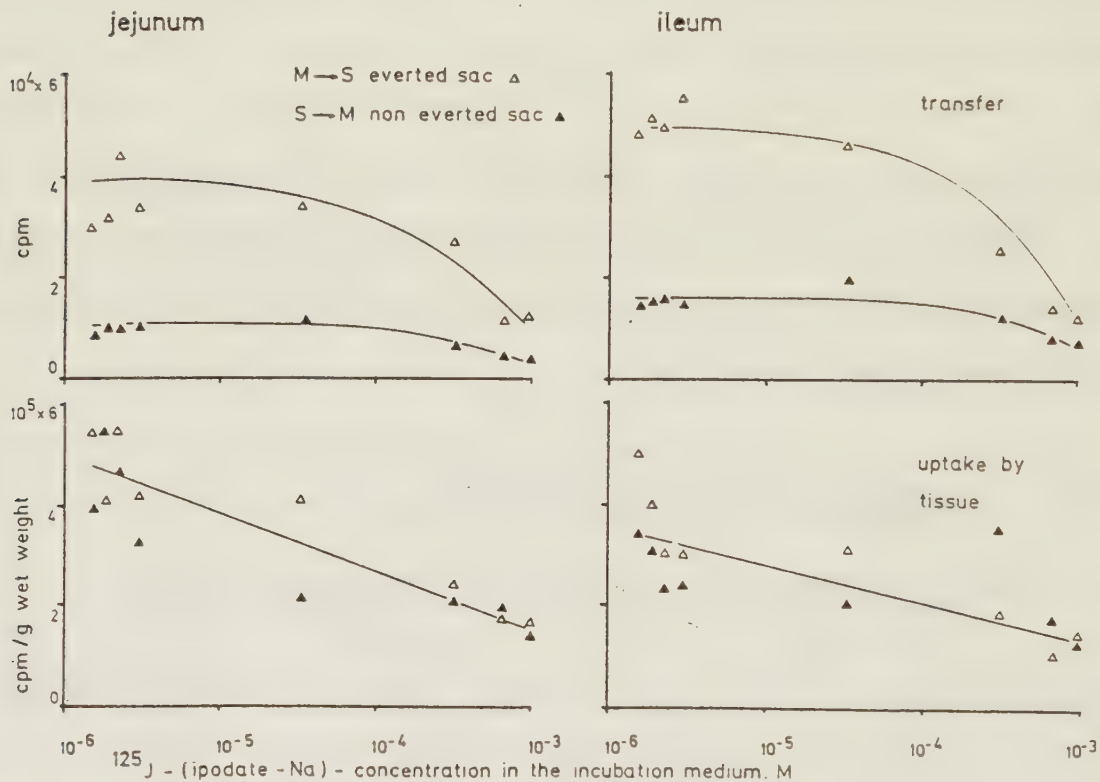
Mit steigender ^{125}J od-(Ipodat-Na)-Konzentration im Inkubationsmedium bleibt die auf die Serosaseite übergetretene ^{125}J -Aktivität an evertierten Jejunumsegmenten zunächst gleich, fällt aber im höheren Konzentrationsbereich von 10^{-4} bis 10^{-3} M ab. Prinzipiell gleiche Resultate werden an Ileumsegmenten gewonnen. Hier ist die Konzentrationsabhängigkeit des Durchtritts von der Mucosa- zur Serosaseite stärker ausgeprägt als an den Jejunumsegmenten.

Abbildung 1

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro: Konzentrationsabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrode-lösung; Inkubationsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C ;
Ipodat-Na und ^{125}J -(Ipodat-Na) wurden zu Beginn des Experimentes nur der Außenlösung zugegeben (50000 Ipm/ml).

Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die Meßpunkte sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen. (s. Tab.12 im Anhang).



Transfer = obere Hälfte

Ordinate = ^{125}J -Aktivität im Resorbat (Ipm/ml)

Abszisse = ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration im Inkubationsmedium

Aufnahme ins Darmgewebe = untere Hälfte

Ordinate = Ipm/g Darmfeuchtgewicht

Abszisse = ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration im Inkubationsmedium

Die Ordinatenmaßstäbe für Transfer u. Aufnahme sind unterschiedlich

2.1.1.2. Versuche an "non-everted sac"-Präparaten (S→M)

Für die Bewegung von der Serosa- zur Mucosaseite, d.h. in der Richtung der Sekretion, sieht man bei beiden Darmabschnitten allenfalls in den höchsten geprüften Konzentrationen eine Andeutung eines verringerten Durchtritts durch die Darmwand.

2.1.2. Aufnahme ins Darmgewebe

Die Aufnahme von ^{125}J -(Ipodat-Na) ist in dieser Versuchsanordnung statistisch nicht signifikant voneinander unterschieden, gleichgültig, ob der Stoff von der Mucosa- oder von der Serosaseite aus angeboten wurde. Mit steigenden Konzentrationen nimmt die Aufnahme von ^{125}J -(Ipodat-Na) ins Gewebe ab; bei Angebot von 10^{-3} M beträgt die im Gewebe vorhandene ^{125}J -Aktivität gerade eben die Hälfte derjenigen, die bei der geringsten angebotenen Konzentration (8×10^{-6} M) gemessen wurde ($p \leq 0,0007$). Die Aufnahme von ^{125}J -(Ipodat-Na) in das Gewebe von Jejunum und Ileum ist etwa gleich groß.

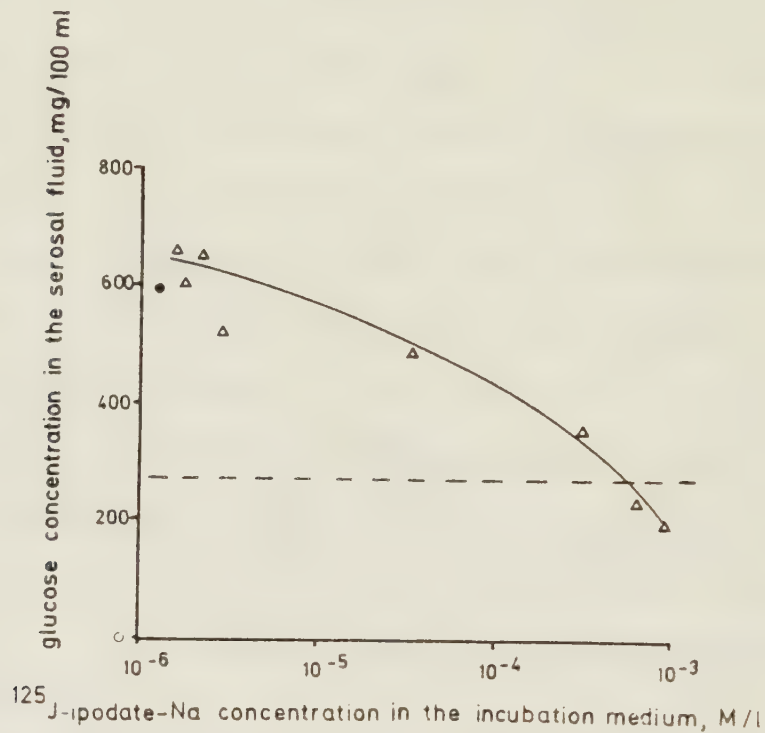
2.1.3. Hemmung des Glucosetransports an "everted sac"-Präparaten durch ^{125}J -(Ipodat-Na)

Die Methode des "everted sac"-Präparates läßt in der hier benutzten Versuchsanordnung nur in begrenztem Umfange eine Aussage über den Natrium-Transport und damit über die Resorption von Wasser zu. Deshalb muß zur Dokumentation der Leistungsfähigkeit der Darmpräparate der Bergauftransport von Glucose herangezogen werden. Die Resultate dieser Versuchsreihe können der Tabelle 13 entnommen werden und sind in der Abbildung 2 graphisch dargestellt.

Abbildung 2

Einfluß der ^{125}J -(Ipodat-Na) Konzentration auf den Glucose-transport an evertierten Jejunumsegmenten in vitro.

Gemessen wurde die Glucosekonzentration pro 100 ml Resorbat. Zu Beginn des Experimentes betrug die Glucosekonzentration in der Innen- wie in der Außenlösung 270 mg %. Die Meßpunkte sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen (s. Tab.13) im Anhang.



Ordinate: Glucosekonzentration in der Innenflüssigkeit (Serosa-seite).

Abszisse: ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration im Inkubationsmedium.

● = Kontrollwerte ohne ^{125}J -(Ipodat-Na)-Zusatz

Δ = Meßwerte mit ^{125}J -(Ipodat-Na)-Zusatz

Bei niedriger $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ -Konzentration liegen die gemessenen Glucosekonzentrationen im Resorbat im Bereich derjenigen von Kontrollversuchen ohne Ipodat-Na-Zusatz. Oberhalb einer $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ -Konzentration von 10^{-4} M nimmt die Konzentration der Glucose auf der Serosaseite ab. Unter dem Einfluß von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ -Konzentrationen von $6,5 \times 10^{-4} - 10^{-3}$ M wird für Glucose zwischen Mucosa- und Serosaseite kein Konzentrationsgradient mehr errichtet.

2.2 Zeitlicher Verlauf des Durchtritts von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ in vitro nach Wilson and Wiseman (1)

Der zeitliche Verlauf des Durchtritts wurde mit einer Konzentration von 10^{-5} M $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ an "everted" und "non everted sac"-Präparaten von Jejunum- und Ileumsegmenten geprüft. Diese Konzentration wurde so gewählt, daß mit einer Hemmwirkung von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ auf physiologische Transportprozesse nicht zu rechnen war.

Bei Prüfung des $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ -Durchtritts in Abhängigkeit von der angebotenen Konzentration hat sich ein bevorzugter Transfer der ^{125}J -Aktivität von $\text{M} \rightarrow \text{S}$ gezeigt (vgl. 2.1.1.). Um die bevorzugte Transportrichtung zu verifizieren, wurde in dieser Versuchsreihe das $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ gleichzeitig in der Innen- und Außenlösung angeboten. Die Ergebnisse sind in der Tab. 14 zusammengefaßt und in der Abb. 3 graphisch dargestellt.

2.2.1 Transfer durch die Darmwand

2.2.1.1. Versuche an "everted sac"-Präparaten

In der Serosaflüssigkeit von evertierten Jejunumsegmenten sinkt die ^{125}J -Aktivität zunächst unter die Ausgangskonzentration ab, erreicht diese nach 60 Minuten wieder und ist nach 120 Minuten auf das rund 1,5-fache der Ausgangskonzentration angewachsen. Auch am Ileum sinkt die ^{125}J -Konzentration im Darmsäckchen nach 20 Minuten unter die Ausgangskonzentration, steigt nun aber schneller an und erreicht nach 120 Minuten sogar das 2,3-fache der Ausgangskonzentration. Die in der Füllung der Darmsäckchen vorhandenen Mengen an ^{125}J -Aktivität sind in der Tab. 14 verzeichnet.

2.2.1.2. Versuche an "non everted sac"-Präparaten

Bei den "non everted sac"-Präparaten sinkt die ^{125}J -Aktivität im Innern des Säckchens sowohl am Jejunum als auch am Ileum schneller ab als bei "everted sacs". Die ^{125}J -Aktivität steigt nach 40 Minuten langsam wieder an und erreicht nach 120 Minuten am Jejunum nur ca. die Hälfte und am Ileum ca. $2/3$ der Ausgangskonzentration.

2.2.2 Aufnahme ins Darmgewebe

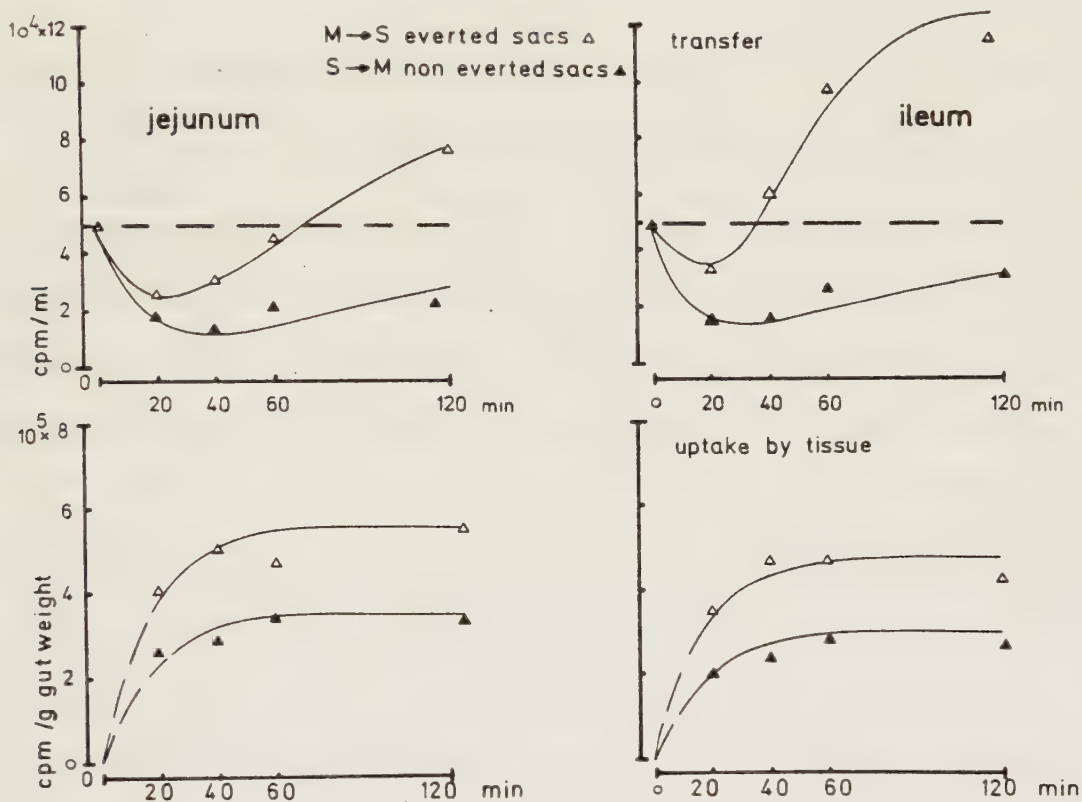
Die Anreicherung von ^{125}J -(Ipodat-Na) im Darmgewebe verläuft offenbar sehr rasch und in solchem Umfang, daß die ^{125}J -Aktivität im Innern der Säckchen, in denen nur eine begrenzte Menge von ^{125}J -(Ipodat-Na) zugegen ist, absinkt. Bei den "non everted sac"-Präparaten, bei denen der Durchtritt von $\text{S} \rightarrow \text{M}$ nur in geringem Umfang erfolgt, steigt dementsprechend die ^{125}J -Aktivität während der Versuchszeit nur langsam an.

Abbildung 3

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro; Zeitabhängigkeit

Methode nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrode-lösung; Temperatur: 37°C ; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration in der Inkubationslösung zu Beginn des Experimentes in der Außen- und der Innenlösung: $10^{-5}\text{ M} \sim 50000\text{ Ipm/ml}$ (gestrichelte Linie). Gemessen wurde am Versuchsende die ^{125}J -Aktivität pro ml Inku-bationslösung, pro ml Resorbat und pro g Darmfeuchtgewicht.

Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 4 - 6 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$. (s. Tab. 14, im Anhang).



Transfer: obere Hälfte

Ordinate: Ipm/ml Resorbat

Abszisse: Inkubationszeit (min)

Aufnahme ins Darmgewebe: untere Hälfte

Ordinate: Ipm/g Darmfeuchtgewicht

Abszisse: Inkubationszeit (min)

Die Ordinatenmaßstäbe für Transfer und Aufnahme sind unterschiedlich.

Vergleicht man die ^{125}J -Aktivität pro Gramm Darmgewebe mit derjenigen, die in einem ml Inkubationsflüssigkeit (Anfangswerte) enthalten ist, so ergibt sich bei "everted sacs" für das Ileum eine Anreicherung um das ca. 8-fache, für das Jejunum sogar um das ca. 10-fache. Bei den "non everted sacs" erfolgt am Ileum eine Anreicherung um das 5- und am Jejunum um das 7-fache. Bei der Transportrichtung $\text{S} \rightarrow \text{M}$ erfolgt also die Anreicherung im Darmgewebe rascher und in höherem Umfang als bei der umgekehrten Transportrichtung.

2.3 Transfer von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ in vitro in Abhängigkeit von der Konzentration nach Wilson and Wiseman (1).

Aus den bisherigen Ergebnissen muß auf einen gerichteten Transport des $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ von der Mucosa- zur Serosaseite geschlossen werden. Zum Vergleich mit dem als Jodträger funktionierendem organischen Ipodat-Na, sollte der Transfer von anorganischem Jodid geprüft werden.

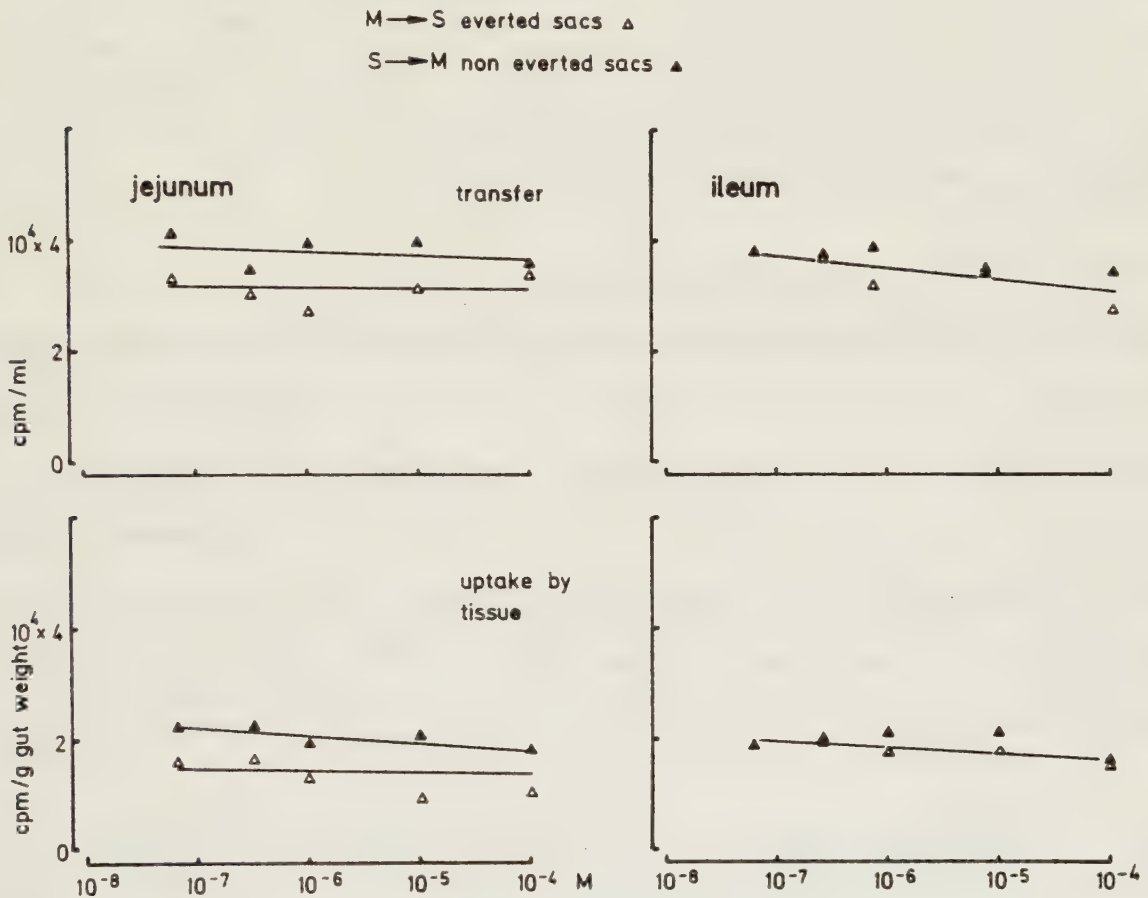
In Analogie zu den Versuchen mit Ipodat-Na wurde zunächst die Konzentrationsabhängigkeit des Durchtritts von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ durch die Darmwand und seiner Aufnahme ins Darmgewebe an "everted sac" und "non everted sac" Präparaten von Jejunum- und Ileumsegmenten nach Wilson and Wiseman (1) in einem Konzentrationsbereich von $3,3 \times 10^{-7} - 10^{-4} \text{ M}$ untersucht. NaJ und $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ wurden zu Beginn des Experiments nur der Außenlösung zugesetzt. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Tab.15 zusammengefaßt und in Abb. 4 graphisch dargestellt.

Abb. 4

Transfer von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro; Konzentrationsabhängigkeit.

Methode nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrode-lösung; Inkubationsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C ; zu Beginn des Experimentes enthielt die Innen- und die Außenlösung NaJ, während $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ nur der Außenlösung zugesetzt wurde (50000 Ipm/ml).

Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die Meßpunkte sind Mittelwerte aus 4 - 8 Einzelversuchen (s. Tab. 15, im Anhang).



Transfer: obere Hälfte

Ordinate: ^{125}J -Aktivität im Resorbat (Ipm/ml)

Abszisse: $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ -Konzentration im Inkubationsmedium

Aufnahme ins Darmgewebe: untere Hälfte

Ordinate: Ipm/g Darmfeuchtgewicht

Abszisse: $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ -Konzentration im Inkubationsmedium

2.3.1. Transfer durch die Darmwand

2.3.1.1. Versuche an "everted sac"-Präparaten

Im Gegensatz zum $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ kann beim $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ an beiden Darmabschnitten eine Konzentrationsabhängigkeit für den Durchtritt durch die Darmwand nicht festgestellt werden.

2.3.1.2. Versuche an "non everted sac"-Präparaten

Weiterhin im Gegensatz zum $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ -Transfer steht die Tatsache, daß, bei Angebot von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ auf der Serosa-seite, der Durchtritt durch die Darmwand leicht erhöht ist gegenüber demjenigen an "everted sacs".

2.3.2. Aufnahme ins Darmgewebe

Auch die Anreicherung im Gewebe liegt bei "non everted sacs" höher als bei "everted sacs". Am Ileum ist diese Erscheinung weniger ausgeprägt. Dort liegen die Raten für Aufnahme und Durchtritt bei beiden Transferrichtungen eng zusammen. Bedingt durch seinen stark hydrophilen Charakter ist an beiden Darmabschnitten die Aufnahme ins Gewebe von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ um mehr als eine Zehnerpotenz niedriger als die von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$.

2.4 Zeitlicher Verlauf des Durchtritts von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ in vitro nach Wilson and Wiseman (1).

Der zeitliche Verlauf des Durchtritts und der Aufnahme wurden bei einer $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ -Konzentration von $3,3 \times 10^{-7} \text{ M}$ an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten nach Wilson and Wiseman (1) geprüft. In dieser Versuchsreihe wurde

das NaJ zu Beginn des Experimentes in der Innen- und der Außenlösung und das $^{125}\text{J}-(\text{Na})$ nur in der Außenlösung angeboten. Die Ergebnisse sind in Tab. 15 zusammengefaßt und in Abb. 5 graphisch dargestellt.

2.4.1. Transfer durch die Darmwand

2.4.1.1. Versuche an "everted sac"-Präparaten

Was sich bei der Prüfung der Konzentrationsabhängigkeit schon andeutete, kommt nun deutlich zur Geltung. Obwohl zu Beginn des Experimentes sowohl bei "everted" als auch bei "non everted sacs" die $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ -Konzentration in Innen- und Außenlösung gleich war, sinkt die ^{125}J -Konzentration in den Darmsäckchen der "everted sacs" innerhalb von 20 Minuten unter 40000 Ipm/ml ab und verändert sich innerhalb der nächsten 80 Minuten nicht mehr.

Diese Aussage gilt für beide Darmabschnitte.

2.4.1.2. Versuche an "non everted sac" Präparaten

Die ^{125}J -Konzentration in den Darmsäckchen der "non everted sacs" sinkt dagegen kaum ab und steigt nach 2 Stunden sogar etwas über den Ausgangswert an. Dieser Anstieg über den Ausgangswert hinaus kann am Ileum nicht beobachtet werden. Ansonsten sind die Resultate an diesem Darmabschnitt ähnlich.

2.4.2. Aufnahme ins Darmgewebe

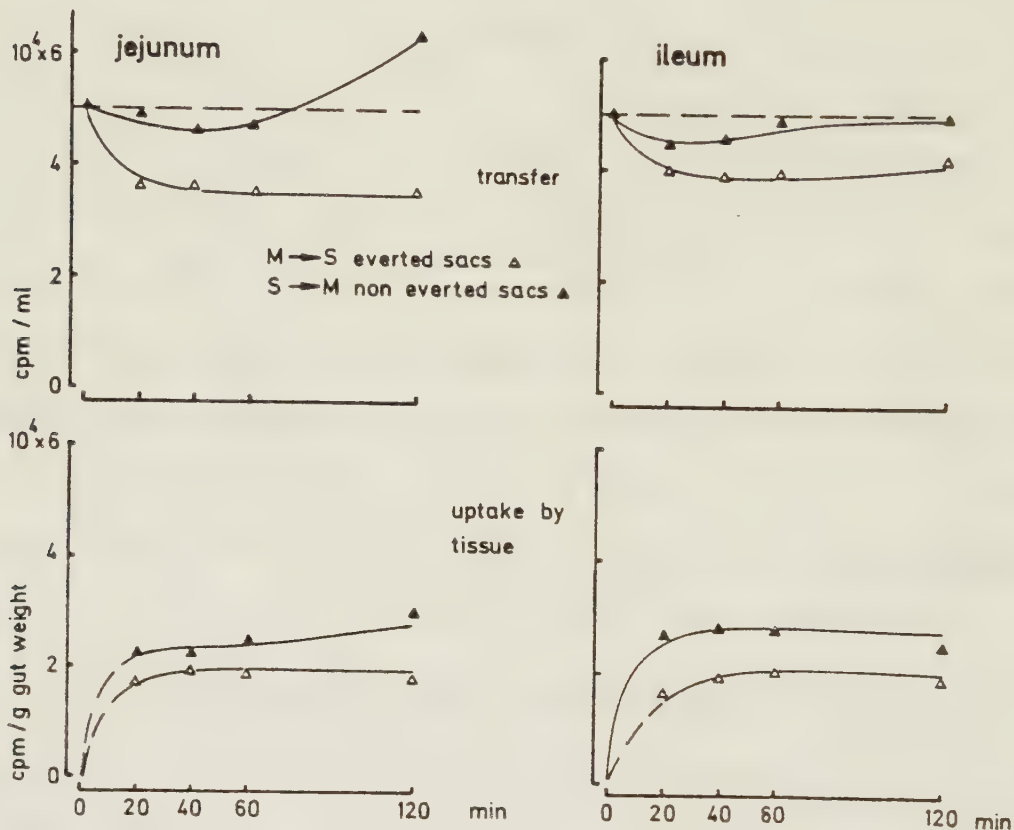
Die Verlaufskurven für die Aufnahme ins Darmgewebe zeigen sowohl bei "everted" als auch bei "non everted sacs" Sättigungscharakter. Der steile Initialanstieg entspricht dem Abfall der

Abb. 5

Transfer von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro; Zeitabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrode-lösung; Temperatur: 37°C ; $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ -Konzentration zu Beginn des Experimentes in der Außen- und in der Innenlösung: $3,3 \times 10^{-7} \text{ M}$ ~ 50000 Ipm/ml = gestrichelte Linie.

Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht (s. Tab. 16, im Anhang).



Transfer: obere Hälfte

Ordinate: ^{125}J -Aktivität im Resorbat (Ipm/ml)

Abszisse: Inkubationszeit (min)

Aufnahme ins Darmgewebe: untere Hälfte

Ordinate: Ipm/g Darmfeuchtgewicht

Abszisse: Inkubationszeit (min)

Verlaufskurven des Durchtritts zu Beginn des Experimentes.

Auch ist die Aufnahme bei "non everted sacs" höher als bei "everted sacs". Diese Aussagen gelten für beide Darmabschnitte.

Die Versuche haben gezeigt, daß die Bewegung von anorganischem $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ keine Gemeinsamkeit mit derjenigen von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ hat. Die im Vergleich mit der organischen Verbindung gerade umgekehrte Bevorzugung der Transportrichtung von $\text{S} \rightarrow \text{M}$, d.h. in Richtung der Sekretion besonders am Jejunum, angedeutet aber auch am Ileum, ist aufgrund der vorliegenden Resultate nicht zu deuten. Der Verdacht besteht, daß der Darm über die Fähigkeit verfügt, Halogene zu sezernieren. Zum tieferen Verständnis dieser Beobachtung sind jedoch weitere Versuche notwendig.

2.5 Transfer von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ in Abhängigkeit von der Temperatur nach Wilson and Wiseman (1)

Wenn man annimmt, daß Ipodat-Na bevorzugt von $\text{M} \rightarrow \text{S}$ durch die Darmwand tritt, muß die Frage geprüft werden, ob der Transport stoffwechselabhängig ist. Deshalb wurde der zeitliche Verlauf des Transfers von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ an "everted sac"-Präparaten von Jejunum- und Ileumsegmenten bei niedrigen Temperaturen ($27^{\circ} - 15^{\circ}\text{C}$) gemessen.

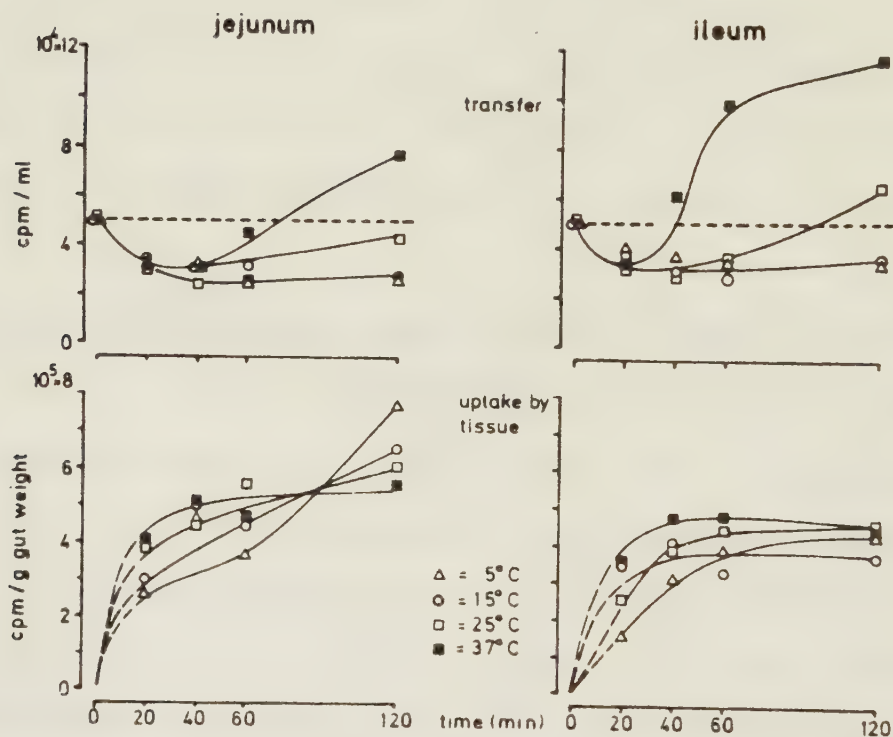
Diese Versuchsanordnung wurde deshalb gewählt, weil zu erwarten war, daß bei den niedrigen Temperaturen die Flüssigkeitsvolumina nicht so starken Schwankungen unterworfen sind wie bei der Versuchsanordnung an isoliert durchströmten Darmsegmenten nach Fisher and Parsons (2), bei der schon bei 25°C die Fähigkeit der Segmente, Wasser zu resorbieren, erlischt. Die Ergebnisse sind in Tab. 17 zusammengefaßt und in Abb. 6 graphisch dargestellt

Abb. 6

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an evertierten Jejunum- und Ileum-segmenten in vitro; Temperatur- Zeitabhängigkeit

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrode-lösung; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration zu Beginn des Experimentes in der Innen- und der Außenlösung: 10^{-5} M/l ~ 50000 Ipm/ml = gestrichelte Linie.

Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die Meßpunkte sind Mittelwerte aus 3 - 6 Einzelversuchen (s. Tab. 17, im Anhang).



Transfer: obere Hälfte

Ordinate: ^{125}J -Aktivität im Resorbat (Ipm/ml)

Abszisse: Inkubationszeit (min)

Aufnahme ins Darmgewebe: untere Hälfte

Ordinate: Ipm/g Darmfeuchtgewicht

Abszisse: Inkubationszeit (min)

Die Ordinatenmaßstäbe für Transfer und Aufnahme sind unterschiedlich.

2.5.1. Durchtritt durch die Darmwand

Im Gegensatz zum Versuch bei Körpertemperatur steigt die ^{125}J -Konzentration im Resorbat von Jejunum- und Ileumsegmenten bei niedrigeren Temperaturen nach dem Initialabfall kaum mehr über die Ausgangskonzentration an. Bei Temperaturen unter 15°C liegt sie sogar deutlich darunter. Mit fallenden Temperaturen verlieren die Darmabschnitte offensichtlich die Fähigkeit zur Errichtung eines Konzentrationsgradienten für die ^{125}J -Aktivität zwischen Mucosa- und Serosaseite. Die berechneten ^{125}J -Mengen in der Füllung der Darmsäckchen sind in der Tab. 17 verzeichnet. Der zeitliche Verlauf ihrer Änderung in Abhängigkeit von der Temperatur ergibt das gleiche Bild wie das der ^{125}J -Konzentration

2.5.2. Aufnahme ins Darmgewebe

Die Aufnahme ins Gewebe verläuft um so langsamer, je niedriger die Temperatur der Inkubationslösung ist. Das gilt für Jejunum- und Ileumsegmente. Dagegen scheint die insgesamt am Versuchsende ins Gewebe aufgenommene Menge von der Temperatur nicht beeinträchtigt zu werden. Die Werte, die bei den verschiedenen Temperaturen gemessen wurden, unterscheiden sich, berücksichtigt man die Streuungen der Einzelergebnisse, nicht voneinander.

2.6 Untersuchungen zur Metabolisierung des ^{125}J -(Ipodat-Na) während des intestinalen Transfers

Es war zu prüfen, ob die Substanz die Darmwand unverändert passiert, oder ob sie während der Darmpassage metabolisch umgebaut wird. Zum größten Teil wurden hierzu isoliert durchströmte Darmsegmente nach Fisher and Parsons (1949)(2) benutzt, da

bei dieser Methode das Resorbatvolumen größer ist als bei der Methode nach Wilson and Wiseman. Das hat zur Folge, daß die zur Analyse verfügbare Menge an ^{125}J -markierten Verbindungen größer ist.

In diesen Versuchsreihen wurden nicht nur Transfer und Aufnahme ins Darmgewebe gemessen, sondern vor allem die Natur der ^{125}J -haltigen Verbindungen, durch Aufarbeiten von Resorbat, Per-fusionsflüssigkeit und Darmgewebe, nach der auf S. 63 beschriebenen Methode untersucht.

2.6.1. Bestimmung der Konzentrationsabhängigkeit der meta-bolischen Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transfers an isoliert durchströmten Jejunumsegmenten nach Fisher and Parsons (2).

Am Versuchsende läßt sich nur der geringere Anteil der gesamten im Resorbat vorhandenen ^{125}J -Aktivität bei pH 6 mit Äther ausschütteln. Bei Angebot einer niedrigen ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration bleibt der größte Anteil der ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase zurück, aus der noch ein bestimmter Anteil mit AgNO_3 fällbar ist,

Da sich freies ^{125}J -(Ipodat-Na) bei pH 6 in Äther ausschütteln läßt, (Bestimmung des Verteilungskoeffizienten von ^{125}J -(Ipodat-Na) s.S. 50) muß die in der wässrigen Phase und im Präcipitat enthaltene ^{125}J -Aktivität, Metaboliten des Ipodat-Na zuzuordnen sein.

Zunächst wurde untersucht, ob der bei hohen Konzentrationen verringerte ^{125}J -(Ipodat-Na)-Transfer (vgl. S. 4) mit einer Änderung des wasserlöslichen Anteils der ^{125}J -Aktivität im Re-

sorbat einhergeht. Die Ergebnisse sind in Tab. 18 zusammengefaßt und in den Abb. 7 und 8 graphisch dargestellt; dabei zeigt Abb. 7 Resorbatvolumen, Transfer und Aufnahmeraten und Abb. 8 die Metabolisierungsraten in Resorbat und Gewebe.

Das Resorbatvolumen nimmt oberhalb einer ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration von 10^{-4} M ab. Beim Transfer nehmen mit steigender Konzentration sowohl die Konzentrationen der ^{125}J -Aktivität/ml Resorbat, als auch die absolut transportierten Mengen ab. Der Rückgang des Transfers bei 10^{-3} M wird verstärkt durch die eingeschränkte Wasserresorption des Darmes. Die Aufnahme ins Gewebe bleibt unbeeinflusst.

Bei niedriger Konzentration (10^{-5} und 10^{-4} M) enthält das Resorbat einen Anteil an unverändertem ^{125}J -(Ipodat-Na) von nur ca. 25 %. Rund 67 % der ^{125}J -Aktivität verbleiben in der wässrigen Phase, während der Silbersalzniederschlag (Präcipitat) 7 % ausmacht.

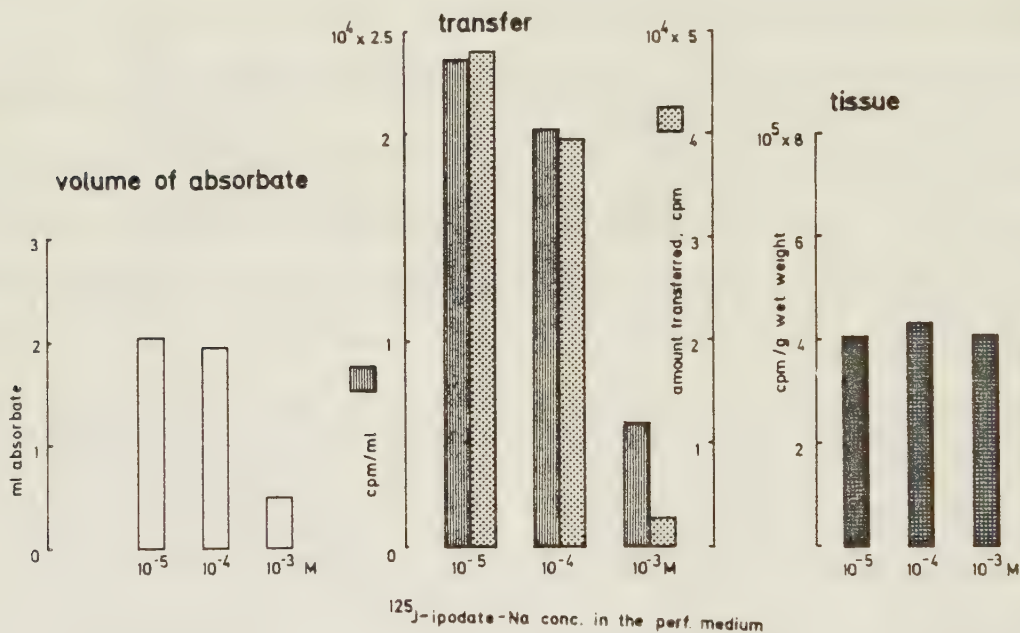
Die dünnschichtchromatographische Analyse des Präcipitats ergibt den gleichen R_f -Wert wie AgJ (s. S. 64). Erst bei einer ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration von 10^{-3} M geht der Anteil der ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase und im Präcipitat weitgehend zurück. Auffällig ist die geringe Konzentration der Metaboliten im Gewebe. Mit steigender ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration nimmt ihr Anteil ab. Sie sind wasserlöslicher als die Muttersubstanz und verlassen offenbar sofort nach ihrer Entstehung die Zellen des Mucosaepithels. 5 Minuten nach Versuchsbeginn konnte in der Perfusionslösung (Anfangswerte) in allen geprüften Konzentrationen erwartungsgemäß kaum ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase und im Präcipitat gemessen werden. Diese

Abb. 7

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an isolierten Jejunumsegmenten in vitro; Konzentrationsabhängigkeit.

Methode nach Fisher and Parsons (2); Perfusionslösung: Tyrode-
lösung; Perfusionsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C ; ^{125}J -Aktivi-
tät zu Beginn des Experimentes in der Perfusionslösung:
100000 Ipm/ml.

Gemessen wurde das Resorbatvolumen und die ^{125}J -Aktivität pro
ml Resorbat bzw- pro g Darmfeuchtgewicht. Die transferierten
Mengen wurden durch Multiplikation der Resorbatvolumina mit den
Konzentrationen von ^{125}J pro ml Resorbat erhalten. Die Meßwerte
sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen (s. Tab. 18, im Anhang).



Bei der Darstellung des Transfers sind die Ordinatenmaßstäbe
für die Konzentration und für die Menge der ^{125}J -Aktivität
unterschiedlich.

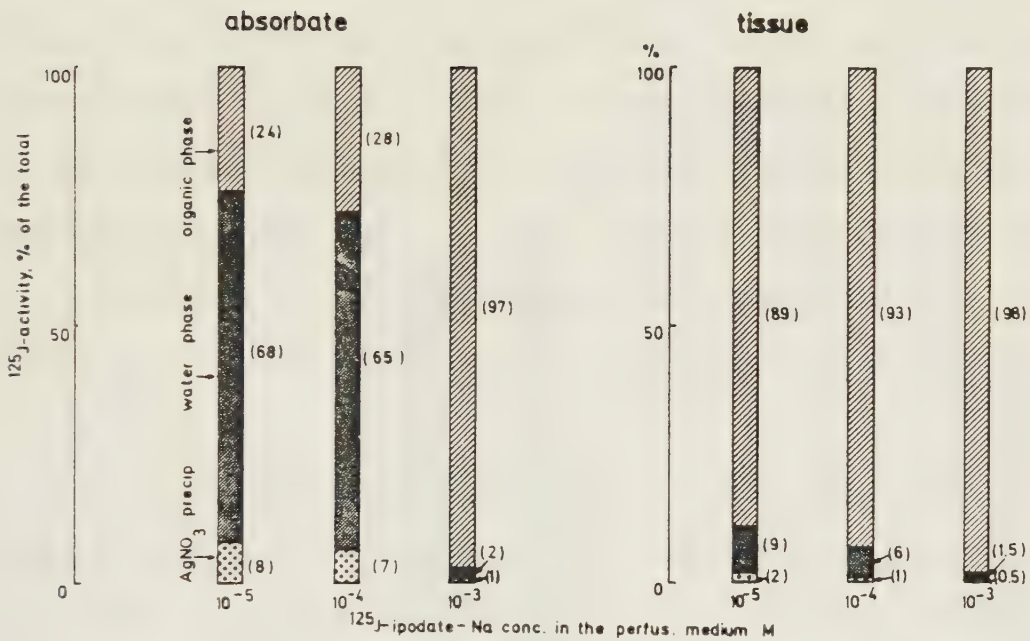
Abb. 8

Metabolische Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transfers an isolierten Jejunumsegmenten; Konzentrationsabhäng.

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrode-lösung; Perfusionsdauer: 2 Stunden; Temperatur: 37°C ;

Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität in den einzelnen Phasen und in % der Gesamtmenge der wiederaufgefundenen Impulse angegeben.

Die Meßwerte sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen (s. Tab. 18 im Anhang).



Feststellung trifft auch für alle folgenden Versuchsreihen zu. Deshalb wurde eine Gesamtstatistik der Anfangswerte aller Versuchsreihen angefertigt. Die Verteilung der ^{125}J -Aktivität auf die einzelnen Phasen ist in Tab. 1 verzeichnet.

2.6.2. Bestimmung der Temperaturabhängigkeit der metabolischen Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transports an isoliert durchströmten Jejunumsegmenten nach Fisher and Parsons (2).

Zur Klärung der Stoffwechselabhängigkeit der Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transportes, wurde die Metabolisierungsrate in Abhängigkeit von der Temperatur untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tab. 19 zusammengefaßt und in Abb. 9 u. 10 graphisch dargestellt. Abb. 9 zeigt Resorbatvolumina, Transfer- und Durchtrittsraten und Abb. 10 die Metabolisierungsraten in Resorbat und Gewebe.

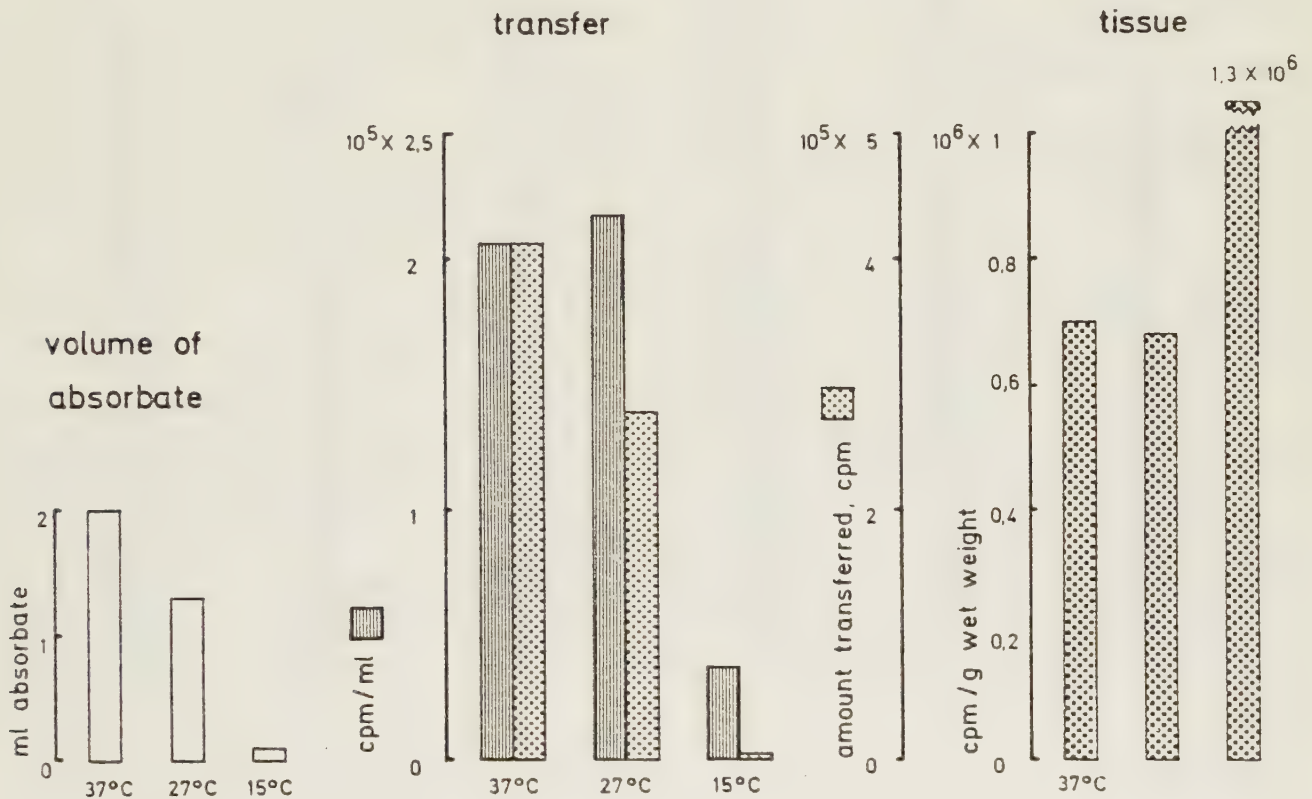
Schon bei 27°C nimmt das Resorbatvolumen deutlich ab und ist bei 15°C bis auf $1/10$ des Volumens bei 37°C zurückgegangen. Beim Transfer ist bei 27°C die Konzentration der ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat noch genau so hoch wie bei 37°C und geht erst bei 15°C drastisch zurück. Bedingt durch die verringerten Resorbatvolumina (eingeschränkte Wasserresorption des Darmes) sinkt die transportierte Menge an ^{125}J -Aktivität schon bei 27°C ab.

Abb. 9

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an isolierten Jejunumsegmenten
in vitro; Temperaturabhängigkeit

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrode-
lösung; Perfusionsdauer: 2 Stunden; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration
zu Beginn des Experimentes in der Perfusionslösung: 10^{-6} M
~ 100000 Ipm/ml.

Gemessen wurde das Resorbatvolumen und die ^{125}J -Aktivität pro
ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die durch die Darmwand
getretenen Mengen wurden durch Multiplikation der Resorbatvolumina
mit den Konzentrationen von ^{125}J pro ml Resorbat erhalten. Die
Meßwerte sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen (s. Tab.19,
im Anhang).

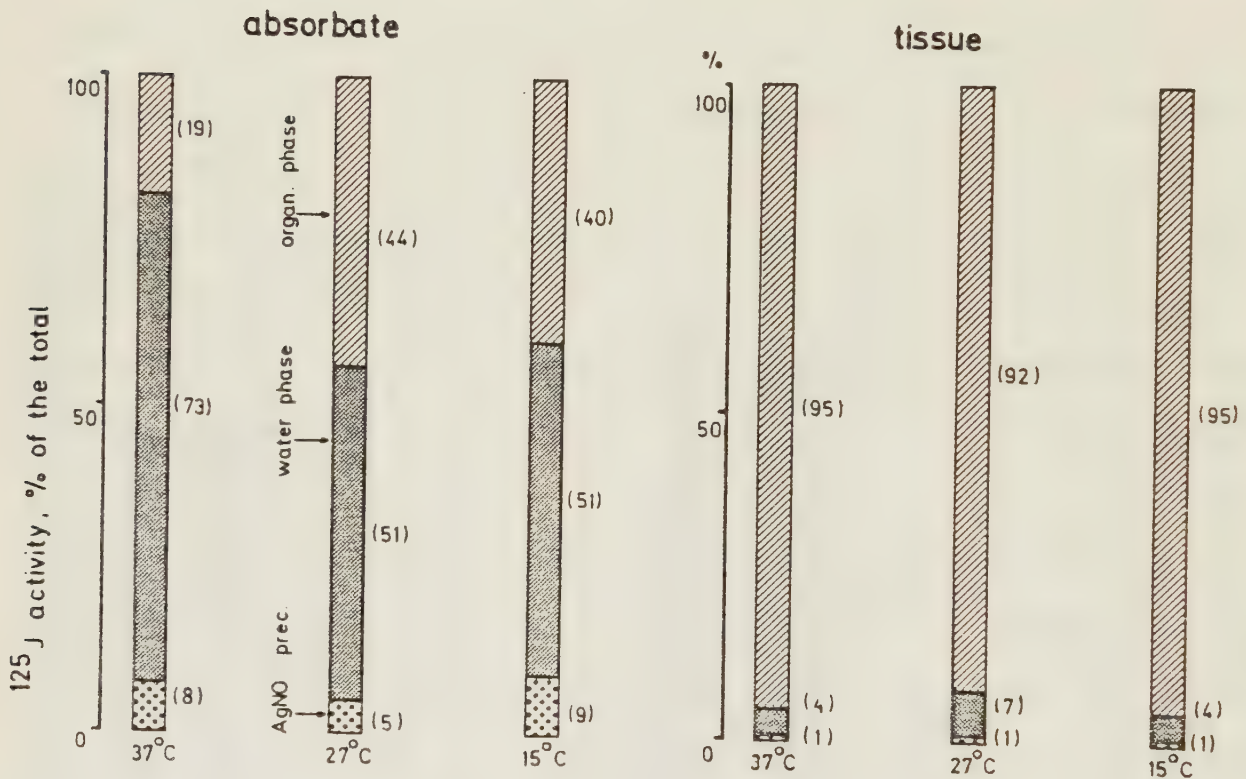


Bei der Darstellung des Transfers sind die Ordinatenmaßstäbe für
die Konzentration und die Menge der ^{125}J -Aktivität unterschiedlich.

Abb. 10

Metabolische Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transfers an isolierten Jejunumsegmenten; Temperaturabhängigkeit.

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrode-lösung; Perfusionsdauer: 2 Stunden; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration zu Beginn des Experimentes in der Perfusionslösung: $3,2 \times 10^{-6}$ M. Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität in den einzelnen Phasen und in % der wieder aufgefundenen Impulse angegeben. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen (s. Tab.19 , im Anhang).



Die Aufnahme ins Darmgewebe ist bei 15°C fast auf das Doppelte der Werte bei höheren Temperaturen angestiegen.

Mit der Einschränkung der Menge an ^{125}J -Aktivität im Resorbat bei 27°C gegenüber 37°C geht eine Änderung der Verteilung der ^{125}J -Aktivität zwischen wässriger und organischer Phase einher. Die ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase nimmt ab, die in der organischen wird mehr als verdoppelt (Abb. 10). Eine weitere Senkung der Temperatur auf 15°C bringt in der Verteilung der ^{125}J -Aktivität zwischen wässriger und organischer Phase keine weitere Veränderung. Der fällbare Anteil an freiem $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ bleibt unabhängig von der Temperatur, bei der die Versuche durchgeführt werden, recht konstant zwischen 8 und 9 % der gesamten Radioaktivität im Resorbat.

Im Darmgewebe entfällt der überwiegende Anteil der ^{125}J -Aktivität auf unverändertes $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na}) \sim 92 - 95\%$ der gesamten Radioaktivität. Daran ändert sich auch nichts, wenn die Versuchstemperatur auf 27 und 15°C gesenkt wird. Der Anteil der ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase bewegt sich zwischen 4 und 7 %. Der fällbare Anteil an $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ liegt bei 1 % der gesamten Radioaktivität.

Tab. 1

Verteilung der ^{125}J -Aktivität auf die einzelnen Phasen der Perfusionsflüssigkeit am Versuchsbeginn; Gesamtstatistik.

Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 55 - 67 Einzelversuchen
 $\pm s_{\bar{x}}$.

Phase	%
organisch	<u>98,8</u> $\pm 0,12$
wässrig	<u>0,7</u> $\pm 0,06$
Präcipitat	<u>0,5</u> $\pm 0,1$

Die prozentuale Verteilung der ^{125}J -Aktivität in der Perfusionslösung am Versuchsende (Endwerte), ist für jede Konzentration einzeln in Tab. 2 (Konzentrationsabhängigkeit) und in Tab. 3 (Temperaturabhängigkeit) angegeben.

Tab. 2

Verteilung der ^{125}J -Aktivität auf die einzelnen Phasen der Perfusionsflüssigkeit am Versuchsende; Konzentrationsabhängigkeit.

Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen
 $\pm s_{\bar{x}}$.

Konz.:	10^{-5} M	10^{-4} M	10^{-3} M
Phase	%	%	%
organisch	<u>89,5</u> $\pm 2,3$	<u>96,5</u> $\pm 0,3$	<u>98,5</u> $\pm 0,6$
wässrig	<u>8,5</u> $\pm 2,2$	<u>2,5</u> $\pm 0,2$	<u>0,5</u> $\pm 0,05$
Präcipitat	<u>2,0</u> $\pm 0,2$	<u>1,0</u> $\pm 0,1$	<u>1,0</u> $\pm 0,1$

Mit steigender ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration nimmt die ohnehin geringe Aktivität im Präcipitat der Endwerte nur wenig ab. Der Anteil der ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase geht aber stark zurück, während im gleichen Maße der Anteil an unverändertem ^{125}J -(Ipodat-Na) zunimmt.

Das Verteilungsmuster der ^{125}J -Aktivität in Resorbat, Gewebe und Endwerten zeigt also, daß die Umwandlung des ^{125}J -(Ipodat-Na) konzentrationsabhängig ist.

Tab. 3

Verteilung der ^{125}J -Aktivität auf die einzelnen Phasen der Perfusionsflüssigkeit am Versuchsende; Temperaturabhängigkeit

Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

	37° C	27 °C	15° C
Phase			
	%	%	%
organisch	<u>92</u>	<u>96</u>	<u>98</u>
	$\pm 3,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$
wässrig	<u>7,0</u>	<u>3,5</u>	<u>1,5</u>
	$\pm 1,2$	$\pm 0,2$	$\pm 0,07$
Präcipitat	<u>1,0</u>	<u>0,5</u>	<u>0,5</u>
	$\pm 0,3$	$\pm 0,06$	$\pm 0,04$

Die Zahlen lassen erkennen, daß mit sinkender Temperatur der Anteil an unverändertem ^{125}J -(Ipodat-Na) in den Endwerten auf Kosten der ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase zunimmt. Der geringe Anteil der ^{125}J -Aktivität im Präcipitat ist bei 27° C und 15° C auf die Hälfte des Wertes bei 37° C zurückgegangen.

2.6.3. Bestimmung der Temperaturabhängigkeit der metabolischen Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transfers an evertierten Jejunumsegmenten in vitro; Methode nach Wilson and Wiseman (1).

Mit der Versuchsanordnung nach Fisher and Parsons (2) ist die Durchführung von Versuchen unterhalb von 15°C wenig sinnvoll, weil das Resorbatvolumen auf Volumina von 0,3 ml absinkt. Bei 15°C ist jedoch nicht gewährleistet, daß jede metabolische Aktivität darniederliegt. Deshalb wurde in einer weiteren Versuchsreihe die Temperaturabhängigkeit der metabolischen Umwandlung an evertierten Jejunumsegmenten nach Wilson and Wiseman (1) bei 37°C geprüft. Die Ergebnisse sind in Tab. 20 zusammengefaßt und in Abb. 11 graphisch dargestellt.

Bei 7°C ist der ^{125}J -(Ipodat-Na)-Transfer auf ein Drittel dessen bei 37°C abgesunken. Die Aufnahme ins Gewebe bleibt unbeeinflusst. Dem geringen ^{125}J -(Ipodat-Na)-Transfer bei 7°C entspricht eine wesentlich erniedrigte Metabolisierungsrate. Es wird fast nur unverändertes ^{125}J -(Ipodat-Na) gefunden, ganz im Gegensatz zum 37°C Versuch. Im Gewebe sind bei 7°C kaum noch Metaboliten zu finden.

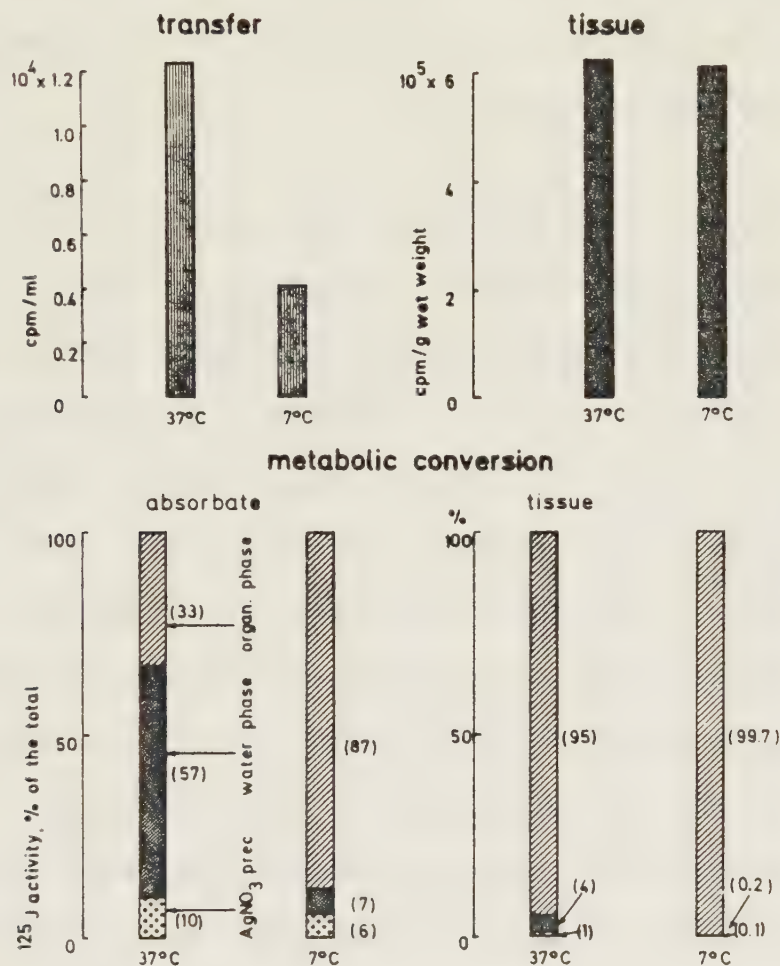
Die Werte der letzten beiden Versuchsreihen zeigen deutlich, daß sowohl Transfer als auch Metabolisierungsrate temperaturabhängig und somit stoffwechselabhängig sind.

Abb.11

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an evertierten Jejunumsegmenten in vitro; Temperaturabhängigkeit

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrode-lösung; Inkubationsdauer: 2 Std.; Ipodat-Na und ^{125}J -(Ipodat-Na) wurde zu Beginn des Experimentes nur der Außenlösung zugegeben, $3,2 \times 10^{-6} \text{ M} \sim 100000 \text{ lpm}$.

Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Zusätzlich wurde die ^{125}J -Aktivität in den einzelnen Phasen von Resorbat und Gewebe gemessen und in % der Gesamtmenge der wiedergefundenen Impulse angegeben. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 5 - 7 Einzelversuchen (s. Tab.2o , im Anhang).



obere Hälfte: Transfer und Aufnahme ins Darmgewebe

untere Hälfte: prozentuale Verteilung der wiedergefundenen ^{125}J -Aktivität auf die einzelnen Phasen des Resorbats und des Gewebes.

2.6.4. Analyse der ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase

Da schon von anderen Arzneimitteln her bekannt war, daß sie im Rattendünndarm konjugiert werden können (5), lag es nahe, in der wässrigen Phase ein Glucuronidkonjugat von Ipodat zu vermuten.

Deshalb wurde versucht, vorhandenes Glucuronid einmal mit β -Glucuronidase und in einer zweiten Versuchsreihe durch alkalische Hydrolyse zu spalten und das freie ^{125}J -(Ipodat) mit Äther bei pH 6 auszuschütteln. Das Verfahren ist auf S.67 ausführlich beschrieben. Die Ergebnisse sind in Tab.21 zusammengefaßt und in Abb.12 graphisch dargestellt.

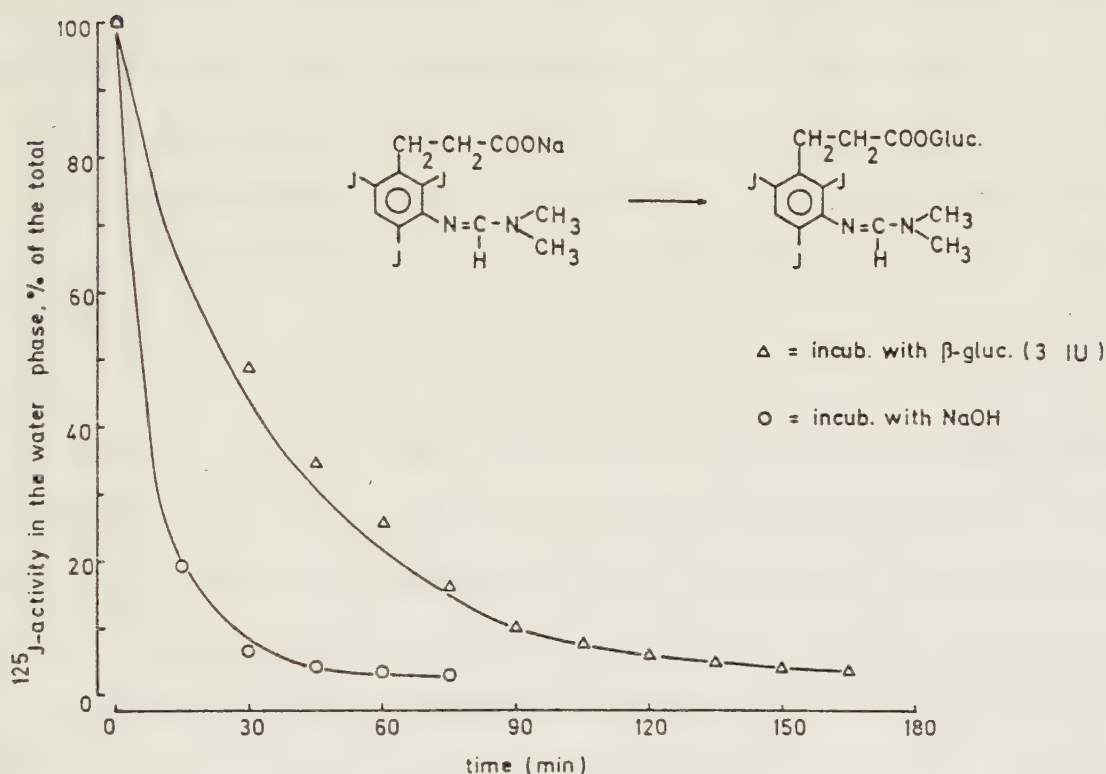
Es ist zu erkennen, daß bei Inkubation mit β -Glucuronidase nach 165 Minuten fast sämtliche Substanz bis auf 3 % gespalten werden konnte. Auch bei Behandlung mit NaOH ergibt sich schon nach 75 Minuten eine nahezu vollständige Aufspaltung des Konjugates bis auf 2,6 %. Da durch Behandlung mit NaOH die gleiche Menge an Konjugaten wie durch β -Glucuronidase gespalten werden konnte und durch alkalische Hydrolyse nur Ester und keine Ätherbindungen gespalten werden können, ist Konjugatbildung beim Ipodat nur an der Carboxylgruppe und nicht auch nach vorhergehender Hydroxylierung am Ring möglich. Der Hauptmetabolit ist danach mit hoher Wahrscheinlichkeit das Esterglucuronid des Ipodats, neben einer geringen Menge anderer, teilweise dejodierter Konjugate.

Abb. 12

Inkubation der wässrigen Phase des Resorbats mit β -Glucuronidase und mit NaOH.

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrode-lösung; Perfusionsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C ; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration: 10^{-6} M . 0,5 ml wässriger Phase wurden mit 3 E. β -Glucuronidase EC 3.2.1.31 bei pH 4,5 und 38°C bzw. mit 0,2 ml n NaOH bei 20°C wiederholt inkubiert und bei pH 6 mit Äther extrahiert.

Gemessen wurde die ^{125}J -Konzentration im Ätherextrakt und in % der wiedergefundenen ^{125}J -Aktivität angegeben. Die Meßpunkte sind Mittelwerte aus 2 - 4 Einzelversuchen (s. Tab.21, im Anhang).



Ordinate: In der wässrigen Phase verbleibender Anteil der ^{125}J -Aktivität in % der insgesamt wiederaufgefundenen Radioaktivität.
Abszisse: Inkubationszeit (min).

2.7 Resorption von ^{125}J -(Ipodat-Na) an abgebundenen Jejunumschlingen in situ.

Um einen Vergleich der Resorption von ^{125}J -(Ipodat-Na) in vitro und in vivo zu erhalten, wurde der Transport an abgebundenen Jejunumschlingen in situ studiert. Gemessen wurde der zeitliche Verlauf der Resorption bei Dosierungen von 2 - 100 μMol . Die Ergebnisse sind in Tab.22 zusammengefaßt und in Abb. 13 graphisch dargestellt.

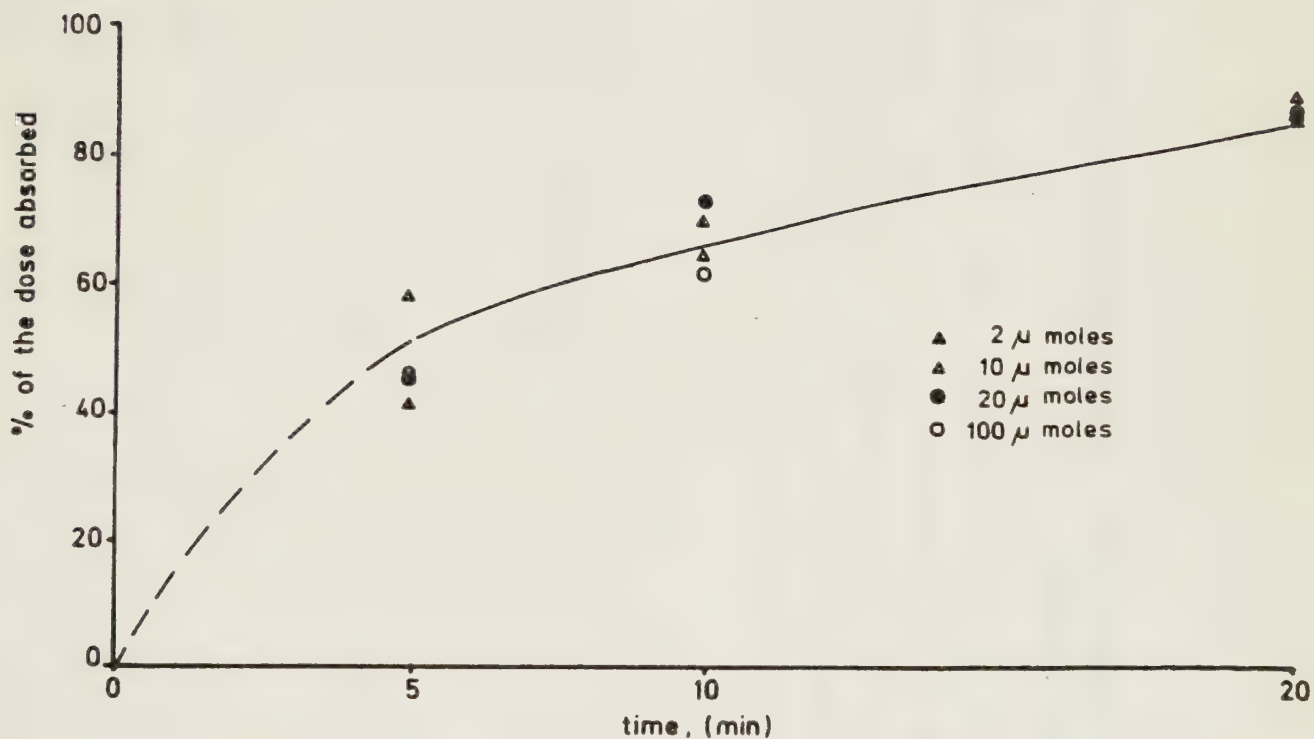
Die Resorption erfolgt sehr rasch. Schon nach 5 Minuten sind ca. 50 % der angebotenen ^{125}J -Aktivität aus dem Darmlumen verschwunden. Danach geht die Geschwindigkeit der Resorption etwas zurück, aber nach 20 Minuten sind fast 85 % der angebotenen ^{125}J -Aktivität resorbiert. Es konnte keine Abhängigkeit der Resorption von der angebotenen ^{125}J -(Ipodat-Na)-Menge festgestellt werden.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde geprüft, in welchem Umfang ^{125}J -(Ipodat-Na) nach der Resorption aus abgebundenen Jejunumschlingen durch die Galle ausgeschieden wird. Es wurde bei allen Tieren zusätzlich der Gallengang kanüliert. ^{125}J -(Ipodat-Na) wurde in Dosen von 200 nMol - 30 μMol angeboten. Jeweils nach einer Stunde wurde die Resorptionsrate, das Gallenvolumen und die Konzentration der ^{125}J -Aktivität in Galle und Plasma gemessen. Aus diesen Daten wurde die Gesamtausscheidung durch die Galle und der Galle/Plasma-Quotient errechnet. Die Ergebnisse sind in Tab. 4 zusammengefaßt.

Abb. 13

Resorption steigender Dosen von ^{125}J -(Ipodat-Na) aus abgebundenen Jejunumschlingen in situ.

2 ml Tyrodelösung wurden in die 20 cm langen Darmschlingen injiziert. Das ^{125}J -(Ipodat-Na) war der Tyrodelösung in den unten angegebenen Dosierungen zugesetzt worden. Die resorbierte Menge wurde aus der Differenz der zu Versuchsbeginn injizierten ^{125}J -Aktivität und der am Versuchsende im Darmlumen und im Zentrifugat des Darmgewebes wiedergefundenen Radioaktivität berechnet. Die Meßpunkte sind Mittelwerte aus 2 - 4 Einzelversuchen (s. Tab. 22, im Anhang.)



Ordinate: resorbierter Anteil der ^{125}J -Aktivität in % der angebotenen Menge.

Abszisse: Inkubationszeit (min).

Tabelle 4

Resorption von ^{125}J -(Ipodat-Na) aus abgebundenen Jejunumschlingen in situ und Ausscheidung durch die Galle nach einer Stunde.

2 ml Tyrodelösung wurden in die 20 cm langen Darmschlingen injiziert. Das ^{125}J -(Ipodat-Na) war der Tyrodelösung in den unten angegebenen Dosierungen zugesetzt worden. Die resorbierte Menge wurde aus der Differenz der zu Versuchsbeginn injizierten ^{125}J -Aktivität und der am Versuchsende im Darmlumen und im Zentrifugat des Darmgewebes wiedergefundenen ^{125}J -Aktivität bestimmt. Zusätzlich wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Plasma und Galle bestimmt. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 4 - 8 Einzelversuchen $\pm s_x$.

Dosierung	resorbierte Menge (% der Dosis)	Gallevolumen (ml)	Ausscheidung durch die Galle (% der verab. Dosis)	(% der resorb. Menge)	<u>Ipm/ml Galle</u> (Ipm/ml Plasma)
200 nMol	<u>95,3</u> $\pm 1,4$	<u>0,9</u> $\pm 0,1$	<u>47,4</u>	<u>49,7</u>	<u>75</u>
10 μMol	<u>98,9</u> $\pm 0,1$	<u>0,7</u> $\pm 0,06$	<u>45</u>	<u>45,5</u>	<u>182</u>
30 μMol	<u>99,2</u> $\pm 0,05$	<u>0,85</u> $\pm 0,1$	<u>39,5</u>	<u>39,8</u>	<u>66</u>

Nach einer Stunde ist die Substanz beinahe vollständig resorbiert. In dieser Zeit wurden 0,7 - 0,9 ml Galle gesammelt. Bei Angebot von 200 nMol ^{125}J -(Ipodat-Na) beträgt die mit der Galle ausgeschiedene Menge innerhalb 1 Stunde fast 50 % der resorbierten Menge und sinkt bei einer Dosis von 30 μMol auf fast 40 % der resorbierten Menge ab. Der Grad der Anreicherung der ^{125}J -Radioaktivität in der Galle gegenüber dem Plasma bewegt sich zwischen dem 66- und dem 182-fachen. Ob dem in den einzelnen Versuchen andere Faktoren als individuelle Streuungen der Plasma- und Galle-Konzentrationen der ^{125}J -Radioaktivität sowie der Produktion von Galle zugrunde liegen, kann aufgrund der hier vorgelegten Resultate nicht entschieden werden. Hierzu sind noch weitere Versuche nötig.

3. Diskussion

3.1. Resorption von Ipodat

Ipodat wird rasch und nahezu vollständig aus dem Dünndarm resorbiert. An abgebundenen Jejunumschlingen waren bereits 20 min nach der Applikation von ^{125}Jod -markiertem Ipodat-Natrium über 80 % der verabreichten Dosis verschwunden (vgl. Abb. 13, S. 33). Die gute Resorbierbarkeit dieses Stoffes aus dem Dünndarm verwundert angesichts seines Verteilungskoeffizienten (vgl. Abb. 15, S. 51) zwischen einer organischen und einer wässrigen Phase im pH-Bereich von 6,5 - 7, wie er im Dünndarm vorherrscht (6), nicht. Ipodat hat in diesem pH-Bereich überwiegend lipophile Eigenschaften und ist deshalb ganz besonders gut für die Penetration durch biologische Membransysteme geeignet.

Das Studium des Transfers von Ipodat durch die Darmwand und seine Aufnahme in das Darmepithel an nicht durchbluteten Darmsegmenten in vitro (Methode nach Fisher and Parsons (2) bzw. nach Wilson and Wiseman (1)) hat die gute Penetrationsfähigkeit des Stoffes durch das Mucosaepithel des Dünndarms bestätigt. Diese Untersuchungen haben jedoch in mehrerlei Hinsicht interessante Anhaltspunkte für die Deutung des Transfervorgangs von Ipodat durch das Mucosaepithel ergeben:

1.) Der Transfer von Ipodat durch die Darmwand von der Mucosa- zur Serosaseite, d.h. in Richtung der Resorption, ist konzentrationsabhängig. Angesichts der Streuung der Ergebnisse kann

das nicht für den Transfer von Ipodat in der umgekehrten Richtung, d.h. von der Serosa- zur Mucosaseite, gesagt werden. Die Aufnahme von Ipodat ins Darmgewebe ist unabhängig davon, von welcher Seite Ipodat angeboten wurde, etwa gleich groß und zeigt ebenfalls eine Konzentrationsabhängigkeit; zwischen den Werten der höchsten und der niedrigsten geprüften Konzentration besteht ein statistisch signifikanter Unterschied der Ipodat-Aufnahme ins Gewebe ($p \leq 0,0007$).

2.) Der Transfer von Ipodat scheint von der Mucosa- zur Serosaseite zu verlaufen. Bei Angebot von ^{125}J -(Ipodat-Na) in gleicher Konzentration auf der Mucosa- und Serosaseite wurde während der Versuchszeit ein Konzentrationsgradient auf der Serosaseite errichtet. Das ist besonders am Ileum deutlich (Ileum: $S/M = 2,4$; Jejunum: $S/M = 1,6$).

3.) Der Transfer von Ipodat durch die Mucosa des Dünndarms ist stoffwechselabhängig. Bei Jejunum- und Ileumsegmenten nach Wilson und Wiseman wurde kein Konzentrationsgradient für Ipodat zwischen der Serosa- und der Mucosaseite errichtet, wenn die Temperatur des Versuchsansatzes niedriger als 25°C war. Der Vorgang der Aufnahme von Ipodat ins Darmgewebe ist bei niedrigen Temperaturen deutlich verlangsamt, Indes ist am Versuchsende, unabhängig von der Temperatur der Versuchsansätze, die insgesamt aufgenommene Ipodat-Menge im Darmgewebe gleich groß.

4.) Der Transfer von NaJ ist bei Jejunum- und Ileum-Segmenten nicht konzentrationsabhängig; das gleiche gilt für die Aufnahme von NaJ ins Darmgewebe. Für NaJ ergibt sich ein bevorzugter Transfer in Richtung der Sekretion, d.h. von der Serosa- zur Mucosaseite hin. Die Bedeutung dieser Beobachtung, vor allem im Hinblick auf eine mögliche Verbindung mit dem Transfer von Halogeniden durch die Darmwand, kann aufgrund der vorliegenden Daten nicht abgeschätzt werden. Hierzu sind noch weitere Experimente nötig. Für die hier zu bearbeitende Fragestellung liegt die Bedeutung der Versuche mit NaJ darin, daß sie die Sonderstellung des Transports von als Jodträger funktionierenden organischen Molekülen gegenüber anorganischem NaJ unterstreichen.

Die aufgezählten Besonderheiten für den Transfer von Ipodat durch die Darmwand und seine Aufnahme ins Darmgewebe schließen aus, daß Ipodat nur durch einen einfachen Diffusionsmechanismus resorbiert wird. Es muß diskutiert werden, ob Ipodat aktiv, d.h. stoffwechselabhängig, gegen einen Konzentrationsgradienten transportiert wird, oder ob Ipodat durch einen anderen stoffwechselabhängigen Transportprozeß, gewissermaßen mittransportiert wird. Im ersten Fall ist ein Ipodat-Trägertransport zu postulieren. Im zweiten Fall ist die Frage zu klären, an welchem stoffwechselabhängigen Prozeß der Mucosazellen der Durchschleusungsvorgang von Ipodat von der Mucosa- zur Serosaseite geknüpft ist.

Es gibt Gründe , die von vornherein die erste Möglichkeit eines spezifischen Carrier-Transports für Ipodat nicht sehr wahrscheinlich machen. Wenn beispielsweise für ein biologisches Substrat ein Trägertransport existiert, ist die Konzentration des Transportsubstrats im Mucosaepithel selbst in der Regel sehr niedrig, weil die Transporteinrichtung für den raschen Abtransport des Substrats aus der Zelle sorgt. Beispiele dafür sind Glucose, Aminosäuren, Natrium-Ionen etc., für die heute allgemein spezifische Transporteinrichtungen durch die Mucosazellen angenommen werden (7). Indes gibt es auch Beispiele dafür, daß eine Transporteinrichtung anzunehmen ist, wenn die Konzentration des transportierten Substrats in der Zelle, auf der Basis eines Vergleiches Konzentration pro g Feuchtgewicht und Konzentration pro g Umgebungsflüssigkeit hoch ist. Das trifft für Eisen zu (8). Für Eisen ist aber zusätzlich zum Transfer durch das Mucosaepithel auch die Aufnahme in die Darmzelle stoffwechselabhängig, d.h. der Grad der Akkumulation von Eisen in den Zellen hängt vom intakten Zellstoffwechsel ab (9). Das gilt nicht für Ipodat; gemessen an der ^{125}J -Aktivität im Darmgewebe war lediglich die Geschwindigkeit der Aufnahme von Ipodat ins Darmgewebe, nicht aber der Grad der Akkumulation aus der Umgebungsflüssigkeit vom Stoffwechsel abhängig.

Aus diesen Überlegungen mußte auch die zweite Möglichkeit näher ins Auge gefaßt werden. Es mußte die Frage geprüft werden, ob Ipodat durch einen stoffwechselabhängigen Prozeß in den Mucosazellen gewissermaßen mittransportiert wird. Derartige gekoppelte Transporte sind als Co-Transporte bei-

spielsweise zusammen mit der Resorption von Wasser möglich. Ein derartiger Co-Transport in Zusammenhang mit der Wasserresorption hat aber nur geringe Wahrscheinlichkeit für sich. Aufgrund des Verteilungskoeffizienten zwischen pH 6,5 und 7 wird Ipodat bevorzugt ins Zellinnere aufgenommen. Da sich im Zellinneren der pH-Wert nicht wesentlich von diesem Bereich unterscheidet und deshalb der Verteilungskoeffizient für Ipodat im Zellinneren etwa gleich bleibt, ist es unwahrscheinlich, daß Ipodat mit dem Wasserstrom in nennenswertem Umfang die Zelle wieder verläßt. Überdies ist nicht auszuschließen, daß der epitheliale Wassertransport bei der Resorption zum größten Teil parazellulär erfolgt. Das ist jedenfalls aufgrund der Vorstellungen über den Transportmechanismus von Wasser als eine passive Folge des aktiven epithelialen Transports von Natrium-Ionen durch die basolateralen Anteile der Membranen der Mucosazellen nicht von der Hand zu weisen (10). Das würde jedoch bedeuten, daß der größte Teil der epithelialen Wasserbewegung nicht transzellulär verläuft. Unter diesem Gesichtspunkt müßte abermals die Frage aufgeworfen werden, wie angesichts des Verteilungskoeffizienten zwischen pH 6,5 und 7 Ipodat die Mucosazellen wieder verlassen kann.

Man muß sich in diesem Zusammenhang die Frage stellen, ob das auf der Mucosaseite angebotene und in die Mucosazellen aufgenommene Ipodat mit demjenigen identisch ist, daß die Zellen wieder verläßt. Es wäre durchaus denkbar, daß in der Mucosa Ipodat in einen Metaboliten umgewandelt wird, dessen Verteilungskoeffizient sich gegenüber dem Verteilungskoeffizient der ursprünglichen Verbindung ganz erheblich unterscheidet. Beispiele

für die metabolische Umwandlung von Arzneistoffen und insbesondere die Bildung gut wasserlöslicher Konjugate sind bekannt (5).

3.2. Metabolisierung von Ipodat während des Durchtrittsvorgangs durch das Mucosaepithel.

Die Versuchsergebnisse besagen, daß bei Angebot niedriger Konzentrationen (10^{-5} - 10^{-4} M) ^{125}J -Ipodat, die Radioaktivität nach der Extraktion der Resorbate der isoliert durchströmten Darmabschnitte vornehmlich in der wässrigen Phase vorlag und gar nicht mehr, wie der ursprünglich eingesetzte Stoff, in die organische Phase übergeführt werden konnte. In der wässrigen Phase liegt offenbar die ^{125}J -Ipodat-Aktivität einheitlich und zum ganz überwiegenden Teil als Glucuronsäure-Konjugat vor. Mit NaOH läßt sich die Spaltung des Konjugats schon nach 75 Minuten Inkubationszeit durchführen (Rest 0,5 % der eingesetzten ^{125}J -Aktivität). Mit β -Glucuronidase wurden diese Werte nach 150 Minuten Inkubationszeit erreicht. Auch hierbei bleibt ein Rest von 0,6 - 0,8 % der ^{125}J -Aktivität, der möglicherweise à Konto eines oder mehrerer anderer Metaboliten geht, deren Struktur noch unbekannt ist. Quantitativ betrachtet fällt die Bildung des oder der noch unbekannten Metaboliten jedoch nicht ins Gewicht. Da die β -Glucuronidase auch Spuren von Sulfatase-Aktivität hat, ist nicht ausgeschlossen, daß in der wässrigen Phase auch Schwefelsäure-Konjugate des Ipodats in minimalen Mengen enthalten sind.

Auffallend ist, daß die Spaltung der Konjugate in der wässrigen Phase nach wiederholter Inkubation mit β -Glucuronidase zu bewerkstelligen war. Nach jeweils 15 min Inkubationszeit kam die Reaktion immer wieder zum Erliegen. Die Ursache dafür ist unbekannt; es ist jedoch zu bedenken, daß möglicherweise das bei der Reaktion entstehende freie Ipodat als Hemmstoff für das Enzym wirksam wird. Die Affinität von Ipodat zu Proteinen ist bekannt (11). Möglicherweise ist darauf auch die resorptionshemmende Wirkung von Ipodat (vgl. Abb. 2, S. 6) zurückzuführen.

Interessant ist, daß die Bildung der Konjugate in sehr hohem Maße von der Temperatur der Inkubationsflüssigkeit abhängig ist. Bei 7°C ist der Anteil der ^{125}J -Aktivität der wässrigen Phase an der gesamten ^{125}J -Aktivität im Resorbat von fast 60 % bei 37°C auf 7 % abgefallen. Im Darmgewebe wird nur wenig ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase gefunden. Bei 37°C sind nur 4 % der ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase; bei 7°C wird in der wässrigen Phase überhaupt keine Radioaktivität mehr nachgewiesen. Diese Beobachtung legt den Schluß nahe, daß die gebildeten Konjugate nicht im Zellinnern verbleiben, sondern rasch ausgeschleust werden.

Der starke Abfall der Bildung freien Jodids bei Angebot hoher Ipodat-Konzentrationen gegenüber den Ergebnissen mit niedrigen Konzentrationen von Ipodat deutet an, daß der Vorgang, der der Dejodierung des Ipodats zugrunde liegt, entweder eine limitierte Kapazität hat, oder von Enzymen bzw. Enzymsystemen abhängt, die durch hohe Ipodat-Konzentrationen, ähnlich wie der Bergauf-Transport von Glucose bzw. die Wasserresorption gehemmt werden.

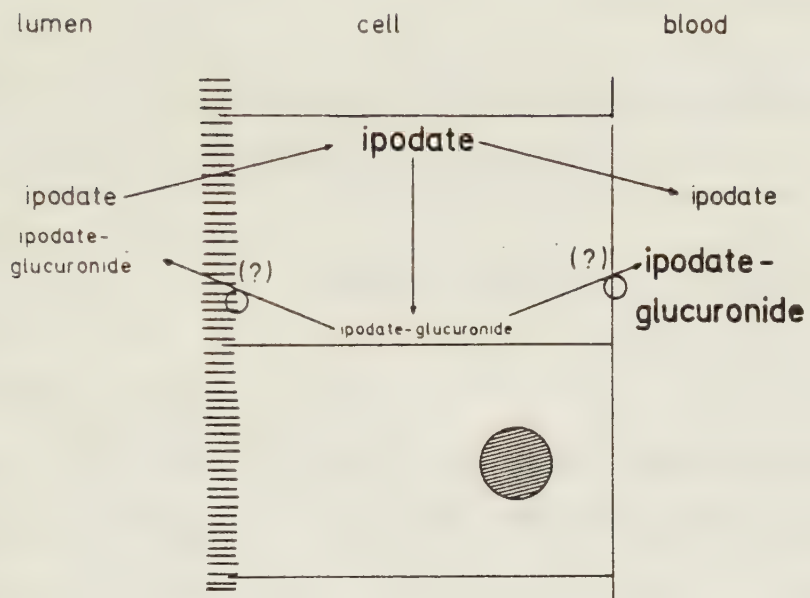
In der Frage, ob die Bildung freien Jodids stoffwechselabhängig ist, haben die Untersuchungen mit unterschiedlichen Temperaturen keine eindeutige Antwort ergeben. Am Jejunum-Segment nach Fisher and Parsons (2) ist bei einer Temperatur der Durchströmungsflüssigkeit bis zu 15°C die Jodidmenge unverändert geblieben im Vergleich mit Versuchen, die bei 37°C durchgeführt wurden. Dagegen ergab die weitere Senkung der Inkubationstemperatur auf 7°C am Jejunumsegment nach Wilson and Wiseman (1) eine Verringerung der Bildung freien Jodids. Im Darmgewebe ist der Anteil an ^{125}J -Jodid an der gesamten ^{125}J -Radioaktivität von 1 % bei 37°C auf 0,1 % bei 7°C abgefallen. Zur Beurteilung, ob der Dejodierung des Ipodats tatsächlich ein stoffwechselabhängiger Vorgang zugrunde liegt, sind noch weitere Untersuchungen nötig. Es ist durchaus möglich, daß zur Bildung freien Jodids lediglich der Kontakt von Ipodat mit lebendem Gewebe ausreicht, um Transjodierungen, wie sie ähnlich etwa bei der Übertragung von Jod auf Proteine erfolgen können, zu ermöglichen. Das freie Jodid bleibt nicht in den Mucosazellen. Die Konzentrationen, die in der Durchströmungsflüssigkeit der isolierten Darmsegmente gemessen wurden, liegen zwar niedriger als diejenigen, die im Resorbat vorhanden waren. Trotzdem ist die in der Durchströmungsflüssigkeit vorhandene Jodid-Menge größer als diejenige im Resorbat, da das Volumen der Durchströmungsflüssigkeit in der Regel 20 bis 30 mal größer ist als dasjenige des Resorbats.

3.3. Versuch der Deutung des Transfers von Ipodat-Na. durch das Mucosaepithel

Aufgrund der hier vorgelegten Resultate ist es möglich, den Versuch einer Deutung des Transfervorgangs von Ipodat durch die Darmwand zu machen (vgl. Abb. 14). Es ist plausibel, anzunehmen, daß Ipodat aufgrund seines Verteilungskoeffizienten zwischen pH 6,5 und 7 aus dem Darmlumen rasch per diffusionem in die Mucosazellen aufgenommen wird. Im Zellinnern wird stoffwechselabhängig und abhängig von der angebotenen Konzentration Ipodat konjugiert, wahrscheinlich zum größten Teil mit Glucuronsäure. Die Konjugate werden rasch aus den Zellen heraus transportiert. Dies kann stoffwechselabhängig durch ein Transportsystem für anionische Substrate erfolgen (12); der Transfer aus der Zelle kann aber auch passiv per diffusionem vor sich gehen. Interessant ist, daß die bevorzugte Richtung des Transfers der ^{125}J -Aktivität von der Mucosa- zur Serosaseite nur scheinbar ein Argument für eine Transporteinrichtung für Ipodat ist. In der Bilanz ergibt sich nämlich, daß beispielsweise bei einem Angebot von 10^{-5} M Ipodat, im Resorbat und in der Durchströmungsflüssigkeit der nach Fisher und Parsons durchströmten Darmsegmente bei 37°C , die Menge an ^{125}J -Aktivität in der wässrigen Phase gleich groß ist.

Abb. 14

Möglicher Transfermechanismus von Ipodat-Na.



Tab. 5

Vergleich der Menge der ^{125}J -Aktivität, die dem Glucuronid-Konjugat zuzuordnen ist, in Resorbat und Inkubationsflüssigkeit am Versuchsende.

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrode-lösung; Perfusionsdauer: 2 Stunden; Temperatur: 37°C ; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration zu Beginn des Experimentes in der Perfusionslösung: $3,2 \times 10^{-6} \text{ M} \sim 100000 \text{ Ipm/ml}$. Am Versuchsende betrug die Konzentration der ^{125}J -Aktivität 90084 Ipm/ml . Aus diesem Wert und weiteren Einzeldaten aus den Tabellen 3 und 19 errechneten sich die unten angegebenen Mengen. Die Zahlenangaben sind Werte aus 3 - 8 Einzelversuchen.

	Ipm
Resorbat:	300879
Inkubationsflüssigkeit:	302682

Das kann so interpretiert werden, daß die Ipodat-Konjugate die Zellen nach allen Seiten hin gleich gut wieder verlassen; möglicherweise werden die Ipodatkonjugate von der luminalen und der basolateralen Membran der Mucosazellen gleichermaßen transportiert. Diese Frage wird in weiteren experimentellen Studien noch zu untersuchen sein.

3.4. Die pharmakotherapeutische Bedeutung der Untersuchungen zum Transfermechanismus von Ipodat.

Die zu diagnostischen Zwecken verabreichte Dosis von Ipodat-Natrium beträgt 3 g. Das ergibt bei 1 - 2 Liter Mageninhalt eine Konzentration von $2,5 - 5 \times 10^{-3}$ M. Bei dieser hohen Konzentration könnte Ipodat auch beim Menschen resorptionshemmende Eigenschaften entfalten, wie sie in vitro am Rattendarm nachgewiesen worden sind. Bei 10^{-3} M Ipodat-Na war die Wasserresorption am isolierten Jejunum der Ratte auf $1/4$ der Kontrollwerte abgesunken; ein Bergauf-Transport von Glucose war unter diesen Bedingungen nicht mehr nachzuweisen. Bislang ist noch keine Beobachtung über Funktionsstörungen des Darmes (Durchfälle etc.) nach Verabfolgung von Ipodat literaturkundig geworden; man wird in Zukunft das Augenmerk auf diese Zusammenhänge lenken müssen. Die Ursache für die resorptionshemmenden Eigenschaften von Ipodat sind noch nicht bekannt. Es liegt aber nahe, daran zu denken, daß diese Wirkung die Folge der Affinität von Ipodat zu Proteinen ist. Möglicherweise lagert sich Ipodat an solche Proteine der Mucosazelle an, die für physiologische Transportprozesse wichtig sind und beeinträchtigt so deren Funktion. Wahr-

scheinlich ist die resorptionshemmende Wirkung von Ipodat am Darm und die hin und wieder beobachtete nephrotoxische (13) Wirkung auf ein und denselben Wirkungsmechanismus zurückzuführen.

Bei dieser Betrachtung ist die Bildung freien Jodids beim Transfer von Ipodat zu erwähnen. Die Bildung freien Jodids war bei Angebot von 10^{-3} M Ipodat beim Transfer durch isolierte Jejunum-Segmente der Ratte in der Größenordnung von 1 % der gesamten, auf der Serosaseite gemessenen ^{125}J -Radioaktivität. Bei der therapeutisch üblichen Dosierung von 2 x 3 g Ipodat in Abständen von mehreren Stunden und bei der Annahme der Überführung von etwa 1 % des verabreichten Jods in freies Jodid, würde sich die in den Organismus aufgenommene Jodmenge auf 18 mg belaufen. Das ist jedoch nur die Menge, die aufgrund der Bildung von freiem Jodid während des Resorptionsvorgangs bei der Ratte errechnet wurde. In Wirklichkeit dürfte die Entstehung von freiem Jodid noch höher sein. Die für den Menschen empfohlene tägliche physiol. Jodidaufnahme beträgt 5 mcg pro Tag; das ist weniger als 1/3000 der Menge, die bei Annahme der Bildung freien Jodids zu nur 1 % in den Organismus gelangt.

Der Transfer von Ipodat erfolgt bei Angebot der zu diagnostischen Zwecken üblichen Dosen zunächst in einer Konzentration, in der die Bildung von Konjugaten durch die konjugierenden Systeme der Mucosazellen gesättigt ist (Abb. 8, S.21). Mit anderen Worten bedeutet das, daß die Menge an unverändertem Ipodat wenigstens zeitweilig diejenige, die als Konjugat im Blut erscheint,

übersteigen kann. Das ist für die bei diagnostischer Anwendung beabsichtigte Wirkung von besonderem Interesse. Ipodat soll als Röntgenkontrastmittel zur Darstellung der Gallenwege dienen. Es muß also in die Leberzelle aufgenommen und als Konjugat in die Gallenkanälchen sezerniert werden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die biochemischen Mechanismen zur Bildung von Ipodat-Konjugaten in der Leberzelle weitgehend denjenigen in der Mucosazelle gleichen. Voraussetzung für die Aufnahme in die Leberzelle ist jedoch, daß freies, nicht konjugiertes Ipodat in der Leber erscheint. Der bereits in den Mucosazellen konjugierte Anteil von Ipodat wird vornehmlich mit dem Urin über die Nieren ausgeschieden. Ist die verabreichte Dosis zu gering, oder der im Mucosaepithel konjugierte Anteil, möglicherweise aufgrund der Induktion konjugierender Enzym-Systeme, sehr hoch, kann es aufgrund der hier dargelegten Zusammenhänge zum Versagen der diagnostischen Maßnahme kommen und zwar einfach deshalb, weil zu wenig freies Ipodat in den Leberzellen erscheint.

4. Beschreibung der Versuche

4.1. ^{125}J -(Ipodat-Na)

Das untersuchte ^{125}J -(Ipodat-Na) wurde uns freundlicherweise von der Firma Schering, Berlin zur Verfügung gestellt.

4.2. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche Wistar-Ratten der Firma W. Gassner, Sulzfeld. Ihr durchschnittliches Körpergewicht betrug 200 g. 20 Stunden vor Versuchsbeginn wurde den Tieren das Futter entzogen; zum Wasser hatten die Tiere freien Zugang.

4.3. Bestimmung des Verteilungskoeffizienten von ^{125}J -(Ipodat-Na) bei verschiedenen pH-Werten.

10 ml einer Pufferlösung, in der ^{125}J -(Ipodat-Na) in einer Konzentration von 10^{-4} M enthalten war, wurden mit 10 ml organischem Lösungsmittel 10 Minuten lang geschüttelt. Nach dem Trennen der beiden Phasen wurde die ^{125}J -Aktivität in 0,5 ml wässriger und 0,5 ml organischer Phase gemessen und daraus die Gesamtkonzentration in jeder Phase berechnet. Der Verteilungskoeffizient k errechnete sich durch Division der Impulszahl der organischen Phase durch die Impulszahl der anorganischen Phase. Bestimmt wurde der Verteilungskoeffizient für Äther, Chloroform und Benzol bei den pH-Werten 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 und 14. Als Puffersysteme dienten:

pH

1 = HCl/KCl

2 = Citrat/HCl

3 - 6 = NaOH

7 = Phosphat

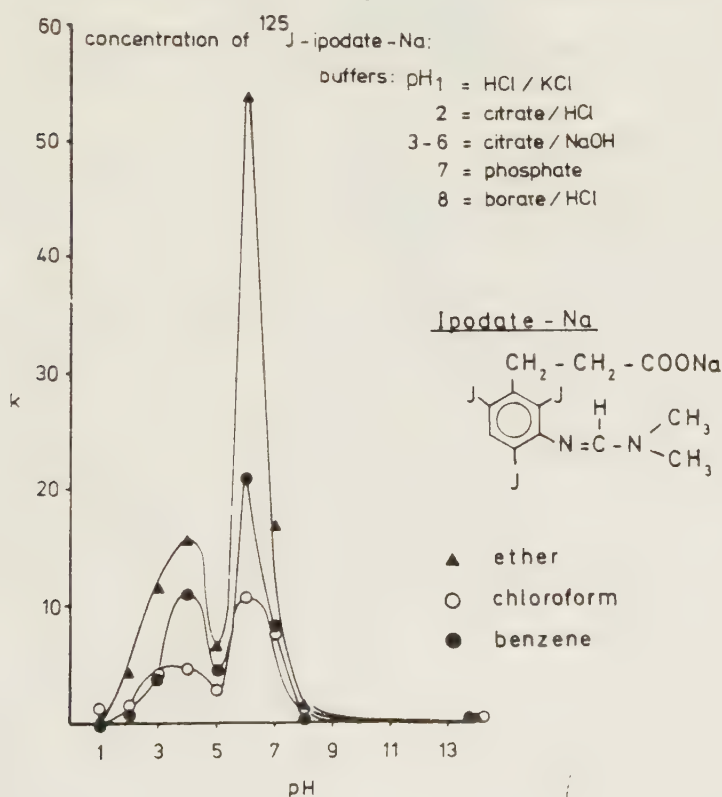
8 = Borat

14 = 1 n NaOH

Der Kurvenverlauf bei allen drei Lösungsmitteln zeigt zwei Maxima. Das symmetrische Maximum bei pH 6 hat eine schmalere Basis und ist wesentlich höher als bei pH 4. Dieser Kurvenverlauf ist beim Lösungsmittel Äther am ausgeprägtesten. Bei pH 6 beträgt k für Äther 55. Die Zweigipfligkeit der Kurve belegt den amphoteren Charakter der Substanz. Bei pH 6 liegt das Molekül in einer Form vor, in der Carboxyl- und Dimethylaminogruppe minimal ionisiert sind. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde ^{125}J -(Ipodat-Na) zu analytischen Zwecken immer wieder mit Äther bei pH 6 extrahiert.

Abb. 15

Bestimmung des Verteilungskoeffizienten k von ^{125}J -(Ipodat-Na)



Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Abb. 15 zusammengefaßt.

4.4. Zur Untersuchung der intestinalen Resorption in vitro

4.4.1. Durchströmung isolierter Jejunum- und Ileumsegmente

Benutzt wurde die Methode von Fisher and Parsons (1949) (2), modifiziert von Rummel und Stupp (1961) (14).

Darmabschnitte:

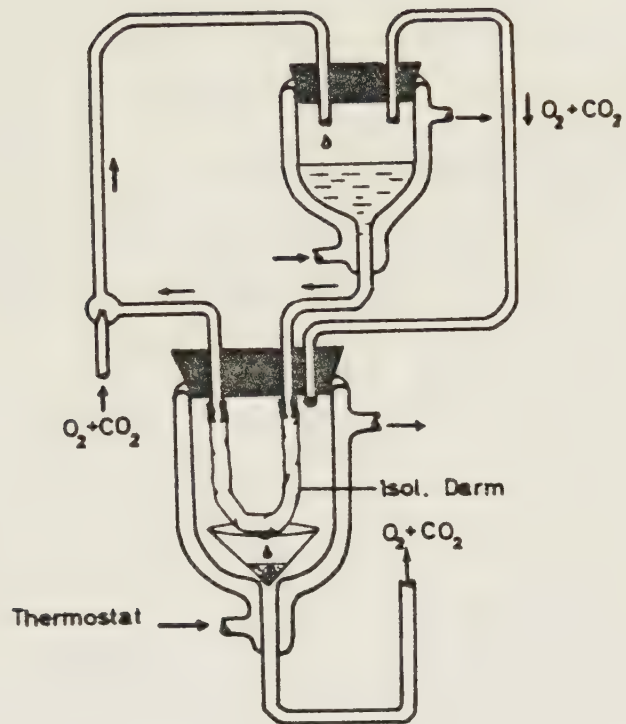
Den Ratten wurde in Äthernarkose von der Flexura duodenojejunalis nach distal zwei rund 10 cm lange Segmente präpariert. Zur Gewinnung von Ileumsegmenten wurde den Tieren von der Valvula ileocecalis nach proximal zwei 10 cm lange Darmabschnitte entnommen.

Durchströmungsflüssigkeit:

Die Darmstücke wurden mit einer Tyrodelösung folgender Zusammensetzung durchströmt: NaCl 8,0; KCl 0,2; $\text{CaCl}_2 \times (2 \text{ H}_2\text{O})$ 0,2; $\text{MgCl}_2 \times (6 \text{ H}_2\text{O})$ 0,1; NaHCO_3 1,0; NaH_2PO_4 0,05 und Glucose 2,7 g/l. Die Flüssigkeit wurde mit einem Gasgemisch aus 95 % O_2 und 5 % CO_2 belüftet und in Zirkulation gehalten. $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ bzw. $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ wurden der Tyrodelösung zugesetzt. Die Temperatur der Perfusionsflüssigkeit, die Perfusionsdauer sowie die Angebotskonzentration von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ bzw. $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ sind unter den tabellarischen und graphischen Darstellungen der Versuchsergebnisse verzeichnet. In Abwandlung des Vorgehens von Fisher and Parsons (2) war das Thermostatgefäß, in dem der Darm hing, nicht mit Flüssigkeit gefüllt, sondern diente nur als feuchte

Abb. 16

Versuchsanordnung nach Fisher and Parsons (2).



Kammer, an deren Boden die während der Versuchsdauer abtropfende Flüssigkeit (Resorbat) aufgefangen wurde. Das Volumen der Resorbate wurde in einem graduierten Zentrifugenglas bestimmt. Die Darmsegmente wurden aufgeschnitten, sorgfältig mit Filterpapier von Schleim und Flüssigkeit gereinigt und gewogen.

Analytische Methoden:

Die ^{125}J -Aktivität wurde zu Versuchsbeginn (Anfangswerte) und am Ende (Endwerte) in der Durchströmungsflüssigkeit, im Resorbat sowie im Darmgewebe gemessen. Durch Multiplikation der resorbierten Flüssigkeitsmenge mit der gemessenen ^{125}J -Konzentration, konnten die insgesamt resorbierten Substanzmengen errechnet werden.

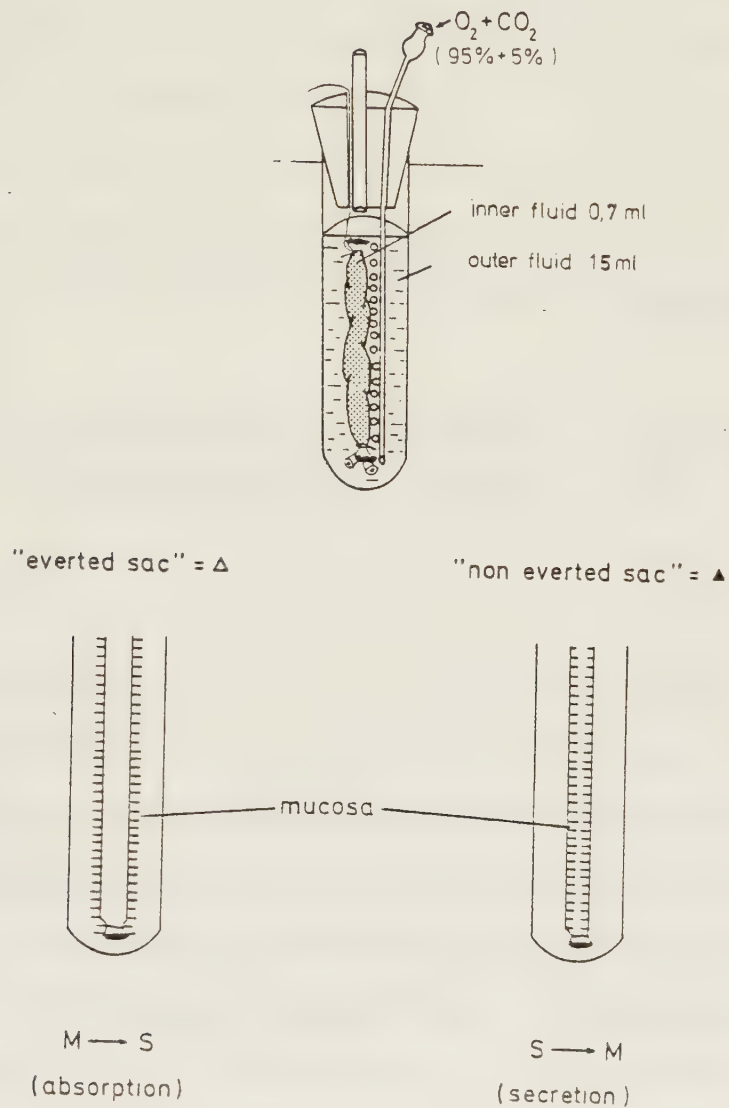
In einigen Ipodat-Na-Versuchen wurden 0,5 ml der Anfangs- und Endwerte, der Resorbate sowie die Därme nach einer unten beschriebenen Methode aufgearbeitet, um während des Transfers gebildete Metaboliten der Menge nach zu erfassen und zu identifizieren.

4.4.2. Inkubation von "everted sac"-Präparaten

Diese Methode nach Wilson and Wiseman (1957) (1) ist geeignet, unidirektionale Flüsse von Mucosa- zur Serosaseite und umgekehrt zu untersuchen.

Abb. 17

Inkubationsanordnung für "everted" und "non everted sac"-
Präparate nach Wilson and Wiseman (1) und schematische
Darstellung der Transportrichtungen.



Von jeder Ratte wurde in Äthernarkose von der Flexura duodeno-jejunalis nach distal bzw. von der Valvula ileocoecalis nach proximal ein ca. 13 cm langes Darmstück präpariert, das über einem PVC-Stäbchen so umgestülpt (everted) wurde, daß die Mucosa-seite des Darmes nach außen und die Serosaseite nach innen zu liegen kam. Danach wurde das Darmstück in eiskalte physiologische Kochsalzlösung gebracht und in zwei 5 cm lange Segmente geteilt. Diese wurden an beiden Enden abgebunden und mit einer Tuberkulinspritze mit 0,7 ml Tyrodelösung (Innenlösung) gefüllt. Die umgestülpten Säckchen wurden in 15 ml Tyrodelösung (Außenlösung) inkubiert, die mit einem Gasgemisch von 95 % O₂ und 5 % CO₂ belüftet wurde.

¹²⁵J-(NaJ) bzw. ¹²⁵J-(Na-Ipodat) wurden je nach Versuchszweck nur in der Außenlösung, nur im Säckchen oder in beiden Kompartimenten angeboten.

Inkubationszeit, Temperatur und Angebotskonzentration von ¹²⁵J-(NaJ) bzw. ¹²⁵J-(Na-Ipodat) sind unter den Versuchsbedingungen in den tabellarischen und graphischen Darstellungen der Resultate verzeichnet. Das am Versuchsende auf der Serosa-seite gemessene Flüssigkeitsvolumen war genau so groß, wie das zu Versuchsbeginn in die Säckchen injizierte Volumen.

Tab. 6

Flüssigkeitsvolumina von "everted sac"-Präparaten (ml)

	Jejunum	Ileum
$\bar{x}$ =	<u>0,67</u>	<u>0,7</u>
$s_{\bar{x}}$ =	<u>+ 0,02</u>	<u>+ 0,02</u>
N =	111	78

4.4.3. Inkubation von "non everted sac"-Präparaten

Entsprechend dem oben beschriebenen Vorgehen wurden "non everted sac"-Präparate des Jejunums und Ileums von Ratten hergestellt, an denen die Stoffbewegung von der Serosa- zur Mucosaseite untersucht wurde. Die Außenlösung betrug ebenfalls 15 ml; die Säckchen wurden auf der Mucosaseite (Innenlösung) mit 0,7 ml Tyrodelösung gefüllt. Am Versuchsende war das Flüssigkeitsvolumen infolge der Wasserresorption kleiner als zu Versuchsbeginn.

Tab. 7

Flüssigkeitsvolumina von "non everted sac"-Präparaten

	Jejunum	Ileum
$\bar{x}$ =	<u>0,39</u> ml	<u>0,48</u> ml
$s_{\bar{x}}$ =	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$
N =	71	58

Analytische Methoden

Entsprechend der bei den Fisher and Parsons Versuchen beschriebenen Methode wurden bei "everted"- als auch bei "non everted sac"-Präparaten das Darmgewicht und das Flüssigkeitsvolumen des Sackinhalts festgestellt. Die ^{125}J -Aktivität wurde in Anfangs- und Endwerten (Außenlösung), im Sackinhalt (Innenlösung) sowie im Darmgewebe gemessen. Auch hier wurden in einigen Ipodat-Na-Versuchen Anfangs-, Endwerte, Resorbate und Därme nach der in 4.5 beschriebenen Methode aufgearbeitet.

Die Beurteilung der Leistungsfähigkeit isolierter, nicht durch-
bluteter Darmsegmente in vitro

Darmpräparate nach Fisher and Parsons (2)

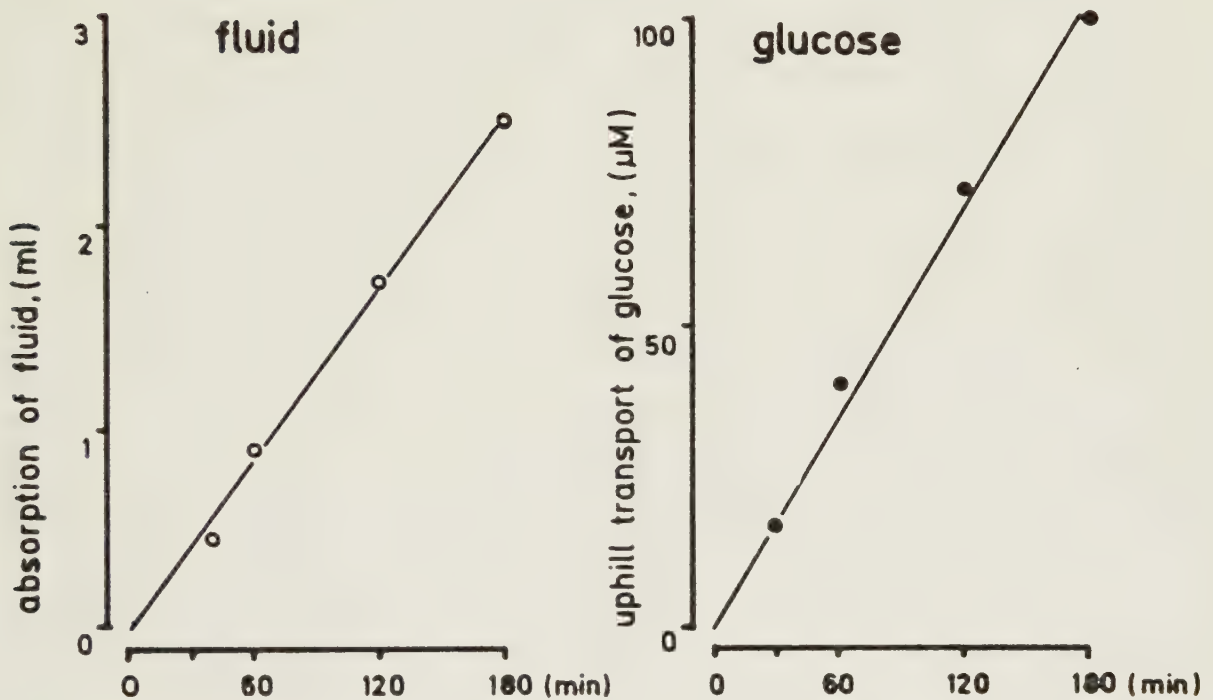
Die Transportleistung der nach Fisher and Parsons durchströmten Jejunumsegmente läßt sich an Hand der Wasserresorption, die eine Folge des epithelialen Natriumtransports ist, sowie des Bergauftransports der Glucose beurteilen. Deshalb wurde die zeitliche Abhängigkeit der Wasserresorption und des Durchtritts von Glucose untersucht. Die Ergebnisse dieses Versuches, der sich über drei Stunden erstreckte, sind in Tab.23 zusammengefaßt, die über die Zeit resorbierten Wassermengen bzw. die Menge der transportierten Glucose sind in der Abb.18 graphisch dargestellt. Man erkennt mit einem Blick, daß die Transportleistung des Darmes für Wasser und für Glucose über drei Stunden linear verläuft.

In der hier vorgelegten Arbeit ist die Versuchszeit auf zwei Stunden begrenzt worden. In dieser Zeit ergaben sich bei einer Darmlänge von 10,1 cm ($s_{\bar{x}} = \pm 0,4$; $N = 37$) eine Wasserresorption von 2,1 ml ($s_{\bar{x}} = \pm 0,1$; $N = 37$). Die Glucosekonzentration im Resorbat betrug 45,9 $\mu\text{Mol/ml}$ ($s_{\bar{x}} = \pm 2,7$; $N = 20$). Die durchschnittliche Wasserresorption pro cm Darmlänge errechnet sich damit zu 0,21 ml/cm. Ein Maß für den Bergauftransport der Glucose von der Mucosa- auf die Serosaseite ist der Quotient aus der Glucosekonzentration im Resorbat, und derjenigen in der Durchströmungsflüssigkeit (Glucosekonzentration auf der Serosaseite dividiert durch die Glucosekonzentration auf der Mucosaseite) S/M; er beträgt nach zwei Stunden 3,1.

Abb. 18

Der zeitliche Verlauf der Resorption von Wasser und des Bergauf-
transports von Glucose an isoliert durchströmten Jejunumsegmenten
in vitro.

Methode nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsflüssigkeit:
Tyrodelösung; Temperatur: 37° C; Glucosekonzentration: $15 \mu\text{M}/\text{ml}$;
Länge der Darmsegmente: $11,2 \pm 0,9$ cm. Die resorbierten Mengen
wurden aus den Resultaten der Tab.23 (s. Anhang) berechnet. Sie
sind Mittelwerte aus 8 Einzelversuchen.



Die hier ermittelten Werte für die Transportleistung der Jejunumsegmente stehen in guter Übereinstimmung mit denjenigen in der Literatur (14. 15, 16, 17).

"Everted sac"-Präparate

Wie bereits oben ausgeführt ist die Netto-Wasserverschiebung zwischen Mucosa- und Serosaseite beim "everted sac"-Präparat kein verlässliches Maß für die Transportleistung, weil sie vom hydrostatischen Druck im Inneren der Darmsäckchen beeinflusst wird. Deshalb wird zur Beurteilung der Transportleistung vor allem die Errichtung eines Konzentrationsgradienten für Glucose zwischen Serosa- und Mucosaseite als wichtiges Kriterium herangezogen. Die Transportleistung des "everted sac"-Präparates der Ratte steigt über zwei Stunden linear an (19).

In diesen Untersuchungen wurde auch die histologische Integrität der in vitro Darmpräparate nachgewiesen. Die in unserer Versuchsanordnung erzielten Ergebnisse für die Glucosekonzentration in der Serosaflüssigkeit der "everted sac"-Präparate sind in der Tab. 8 zusammengefaßt. Dabei zeigt sich, daß in der Serosaflüssigkeit des Jejunums der Ratte die Glucosekonzentration 2,3 x höher war als in der Inkubationsflüssigkeit. Der hier erzielte Konzentrationsgradient ist mit den in der Literatur vorhandenen Daten in guter Übereinstimmung (19).

Am Ileum wird Glucose nicht mehr bergauf transportiert. Es kommt während der Versuchszeit nicht einmal zum Konzentrationsausgleich zwischen Serosa- und Mucosaseite. Die Glucosekonzentration

Tab. 8

Glucosekonzentration im Innern des Säckchens von "everted" und "non everted sac"-Präparaten des Jejunums und des Ileums in vitro.

Methode nach Wilson and Wiseman (1); Füllung: Tyrodelösung; Glucosekonzentration: 15 μ M/ml; Länge der Darmsegmente: 5 cm. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 58 - 86 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

S/M = Glucosekonzentration auf der Serosaseite

Glucosekonzentration auf der Mucosaseite

	Jejunum		Ileum	
	Glucosekonzentration (μ M/ml)	S/M	Glucosekonzentration (μ M/ml)	S/M
everted sac	$\frac{34.9}{\pm 0.52}$	$\frac{2.3}{-}$	$\frac{6.4}{\pm 0.33}$	$\frac{0.43}{-}$
non everted sac	nicht meßbar	-	$\frac{4.9}{\pm 0.4}$	$\frac{0.33}{-}$

betrug in der Serosaflüssigkeit nur wenig mehr als 40 % derjenigen, die auf der Mucosaseite angeboten wurde. Trotzdem ist der Transfer von Glucose stoffwechselabhängig, wie Untersuchungen mit Sauerstoffentzug bzw. Zusatz von Stoffwechsel-Inhibitoren gezeigt haben (19).

"Non everted sac"-Präparate

Aufgrund der physiologischen Anordnung des resorbierenden Mucosa-epithels im Inneren der Darmsäckchen ist es nicht verwunderlich, daß die Glucosekonzentration in der Innenflüssigkeit nicht meßbar war. Die Transportleistung ist so groß, daß die auf dieser Seite der Mucosa angebotene Glucose in der Versuchszeit vollständig vom Mucosaepithel aufgenommen und zur Serosaseite hin transportiert wurde.

In der Ileum-Mucosa ist eine Resttransportkapazität für Glucose enthalten; das geht aus der Bestimmung der Glucosekonzentration im Inneren der nicht evertierten Ileumsäckchen hervor. Die dort angebotene Glucosekonzentration von 15 $\mu\text{Mol/ml}$ ist in der Versuchszeit auf etwa 30 % dieses Wertes abgefallen.

Besondere Einsatzmöglichkeiten für die verschiedenen in vitro-Präparate

Aufgrund der Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Darmpräparate läßt sich sogar sagen, daß die nach Fisher and Parsons (2) präparierten Darmsegmente das Standard-Präparat zur Beurteilung der Resorption von Arzneistoffen in vitro darstellen. Mit ihm kann man

nicht nur den Durchtritt des Arzneistoffs untersuchen, es läßt auch Aussagen über die Auswirkung des Arzneistoffs auf die Transportleistung für Wasser und physiologische Substrate wie Glucose zu. Darüberhinaus kann in gewissem Umfang die metabolische Veränderung von Arzneistoffen durch das Mucosaepithel in dieser Versuchsanordnung erfaßt werden.

Die evertierten und nicht evertierten Darmpräparate werden dann herangezogen, wenn der Durchtritt eines Arzneistoffs von der Mucosa- zur Serosaseite (in Richtung der Resorption), bzw. in der umgekehrten Richtung von der Serosa- zur Mucosaseite (in Richtung der Sekretion), untersucht werden soll. Darüberhinaus bietet diese Versuchsanordnung den Vorteil, daß praktisch keine Wasserverschiebung eintritt, wenn das Präparat zu Resorptionsuntersuchungen (M→S) benutzt wird. In einem recht kleinen Resorbatvolumen lassen sich noch sehr geringe Arzneistoffmengen mit den hier verwendeten Tracermethoden leicht nachweisen.

4.5 Die qualitative und quantitative Analyse von ^{125}J -(Ipodat-Na) und seinen Metaboliten in biologischem Material

Ipodat-Na läßt sich bei pH 6 mit Äther aus wässriger Lösung nahezu vollständig ausschütteln (Beschreibung der Bestimmung des Verteilungskoeffizienten siehe 4.3.). 0,5 ml der zu untersuchenden Flüssigkeit wurden mit 1,0 ml Pufferlösung pH 6 versetzt und zwei mal mit je 1,5 ml Äther extrahiert. Die Extraktion der Resorbate war am vollständigsten, wenn der erste Extraktionsgang mit Benzol anstatt mit Äther durchgeführt wurde. In Testversuchen

in denen reines ^{125}J -(Ipodat-Na) zum Darmresorbat zugesetzt und daraus mit dieser Methode extrahiert wurde, wurde eine Wiederauffindungsrate von 99,9 % erzielt (s. Tab.11). Nach dem Abtrennen der organischen Phase wurde die darin enthaltene ^{125}J -Aktivität gemessen. Die anschließende dünnschichtchromatographische Untersuchung in zwei verschiedenen Fließmitteln ergab, daß sich in der organischen Phase von Anfangs- und Endwerten, Resorbaten und Darmgewebe, nur unverändertes Ipodat-Na befindet.

Tab. 9

DC-Untersuchung des mit Äther extrahierten Anteils der ^{125}J -Aktivität

Beschichtung:	Kieselgel	Kieselgel
Fließmittel:	Benzol 6	n-Butanol 8
	Essigsäure 4	Essigsäure 2
	Äthylacetat 4	Wasser 2
	Methanol 3	
R_f -Wert:	a = <u>0,7</u>	a = <u>0,9</u>
	b = <u>0,7</u>	b = <u>0,9</u>

a = Standardsubstanz = ^{125}J -(Ipodat-Na)

b = mit Äther bzw. Äther + Benzol extrahierbare ^{125}J -Aktivität.

Anschließend wurde die wässrige Phase mit 50 μl HNO_3 10 % angesäuert, und 10 μl NaJ-Lösung 10 % und 100 μl AgNO_3 -Lösung 20 % wurden zugegeben. Der Niederschlag wurde gewaschen und seine ^{125}J -Aktivität gemessen. Nach Aufnahme in 0,2 ml gesättigter KCN-Lösung wurde das Präcipitat dünnschichtchromatographisch untersucht. Dabei ergaben sich die gleichen R_f -Werte, wie bei

$^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$, das auch mit AgNO_3 gefällt, in KCN-Lösung komplex gelöst und als Vergleichssubstanz auf die DC-Platte aufgetragen wurde.

Bei der DC-Untersuchung der organischen Phase und des Präcipitats wurden die R_f -Werte dadurch ermittelt, daß nach der Entwicklung die Platte vom Startpunkt an bis zur Fließmittelgrenze in 1 cm breite Bahnen aufgeteilt und die Beschichtung bahnenmäßig ausgekratzt wurde. Die Radioaktivität des Chromatogrammpulvers wurde anschließend im γ -Zähler gemessen.

Tab. 10

DC-Untersuchung des AgNO_3 -Präcipitats

Beschichtung: Kieselgel		Kieselgel	Cellulose
Fließmittel:			
	Isopropanol 80	Äthylacetat 55	Athylacetat 55
	NH_3 20	Isopropanol 35	Isopropanol 35
		NH_3 20	NH_3 20
R_f -Wert	a =	0,5	0,38
	b =	0,5	0,38
		0,38	0,2
			0,2

a = Standard = $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ mit AgNO_3 gefällt, in gesättigter KCN-Lösung komplex gelöst und aufgetragen

b = AgNO_3 -Präcipitat der wässrigen Phase des untersuchten Materials in gesättigter KCN-Lösung komplex gelöst und aufgetragen.

Tab. 11

Wiederauffindungsraten bei der Extraktion von ^{125}J -(Ipodat-Na)

a) Extraktion aus Resorbat

%

$$\bar{x} = \underline{99,9}$$

$$s_{\bar{x}} = \pm 0,02$$

$$N = 5$$

b) Extraktion aus Darmgewebe

%

$$\bar{x} = \underline{99,6}$$

$$s_{\bar{x}} = \pm 0,06$$

$$N = 5$$

Da das so behandelte Präcipitat der Standardsubstanz und des untersuchten Materials in verschiedenen Systemen den gleichen R_f -Wert aufweist, dürfte es sich bei dem mit AgNO_3 fällbaren Anteil der ^{125}J -Aktivität, im folgenden als Präcipitat bezeichnet, um Jodid handeln.

In der zurückbleibenden wässrigen Phase wurde die ^{125}J -Aktivität gemessen. Die in organischer Phase, wässriger Phase und Präcipitat enthaltenen Impulsraten wurden addiert und die in den einzelnen Phasen enthaltene Menge der ^{125}J -Aktivität in % der insgesamt wiederaufgefundenen Impulse ausgerechnet. In Abweichung der bei

der Aufarbeitung von Flüssigkeiten benutzten Methode (Resorbate, Anfangs- und Endwerte) wurden die Därme in 2 ml Pufferlösung pH 6 in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator homogenisiert und mit 3 ml Pufferlösung pH 6 aus dem Homogenisiergefäß in ein Zentrifugenglas gespült. Nach zweimaliger Extraktion mit je 2 ml Äther wurden Äther und wässrige Phase abgezogen. Das Gewebe wurde erneut mit 3 ml Pufferlösung pH 6 versetzt und 2 mal mit je 2 ml Äther extrahiert. Nach Abziehen von Äther und wässriger Phase wurde dieser Vorgang noch einmal wiederholt (Zusatz von 3 ml Pufferlösung pH 6 und zweimalige Extraktion mit je 2 ml Äther). In 0,5 ml der Ätherphase wurde die ^{125}J -Aktivität gemessen und daraus die Gesamtmenge in der Ätherphase berechnet. Mit dieser Methode konnte in Kontrollversuchen eine Extraktionsrate von 99,6 % erzielt werden (s. Tab. 11). Die wässrige Phase wurde auf zwei Zentrifugengläser verteilt. In jedem Zentrifugenglas wurde die wässrige Phase mit 100 μl HNO_3 10 % angesäuert und mit 10 μl NaJ-Lösung 10 % und 500 μl AgNO_3 -Lösung 20 % versetzt. Das Präzipitat wurde abzentrifugiert, gewaschen und dessen ^{125}J -Aktivität im γ -Zähler gemessen. Die Werte beider Zentrifugengläser wurden addiert. Der Überstand aus beiden Zentrifugengläsern wurde vereinigt und die darin enthaltene ^{125}J -Aktivität bestimmt. Die Umrechnung der in den einzelnen Phasen enthaltenen Aktivität in Prozent-Anteilen erfolgte genau wie bei den Flüssigkeiten.

Zur Identifizierung des in der wässrigen Phase des Resorbats enthaltenen Metaboliten wurden nach Ätherextraktion 1,5 ml der wässrigen Phase bei 38°C mit 3 E. β -Glucuronidase EC 3.2.1.31 aus *Escherischia coli* der Firma Boehringer, bei pH 4,5 30 Minuten lang inkubiert. Nach Erhöhung des pH auf 6,0 wurde die wässrige

Phase mit 1,5 ml Äther extrahiert und die ^{125}J -Konzentration in der Ätherphase gemessen. Der Vorgang wurde mehrmals in Fünfzehnminutenabständen wiederholt. In einem zweiten Versuch wurden 1,5 ml wässriger Phase anstatt mit β -Glucuronidase mit 0,2 ml n NaOH wiederholt bei 20°C inkubiert und mit Äther extrahiert. Die nach jeder Extraktion im Äther enthaltene ^{125}J -Aktivität wurde in % der insgesamt wiedergefundenen Aktivität umgerechnet.

4.6. Methode zur Untersuchung der Resorption in vivo

Untersuchung des Transports von ^{125}J -(Ipodat-Na) an abgebundenen Jejunumschlingen in situ.

In Äthernarkose wurden bei Ratten Jejunumschlingen von 20 cm Länge von der Flexura duodenojejunalis nach distal abgebunden und mit 2 ml Tyrodelösung gefüllt, der ^{125}J -(Ipodat-Na) in unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt war. Nach der Inkubationszeit wurden die Tiere getötet, die Jejunumschlingen entfernt und deren Inhalt aufgefangen. Die Därme wurden gewogen und mit 10 ml physiologischer Kochsalzlösung in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator homogenisiert. Nach Zentrifugation wurde der Überstand mit dem Schlingeninhalte vereinigt und die ^{125}J -Aktivität in dieser Flüssigkeit bestimmt. Die resorbierte Menge errechnete sich aus der Differenz der zu Versuchsbeginn angebotenen Impulszahl und der am Versuchsende im Zentrifugat und Schlingeninhalte wiederaufgefundenen Impulse. In einer weiteren Versuchreihe wurde zusätzlich vor der Schlingenligation der Gallengang der Ratte durch einen PVC-Schlauch $\varnothing 0,5\text{mm}$ kanüliert und die Galle

vom Zeitpunkt der Schlingenfüllung an in einem graduierten Zentrifugenglas gesammelt. Weiterhin wurde den Tieren nach Entfernung der Darmschlingen durch Herzpunktion Blut entnommen und die ^{125}J -Aktivität in Blut, Galle und Plasma bestimmt.

4.7 Quantitative Glucosebestimmung

Glucosebestimmungen wurden photometrisch nach der Glucose- Oxidase Methode durchgeführt mit dem GOD Perid Bestimmungssatz der Firma Boehringer und dem Eppendorf Photometer 1100 M.

4.8 Messung der Radioaktivität

Die ^{125}J -Aktivität wurde in einem Scintillationsspektrometer der Firma Packard, Modell 3002 bestimmt. Als Standard dienten 0,5 ml der Inkubationslösung.

4.9 Statistische Methoden

Die in den Tabellen aufgeführten Meßwerte stellen das arithmetische Mittel $\bar{x}$ aus n Einzelwerten dar. Außerdem ist jeweils der mittlere Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ angegeben. Der Ermittlung der Irrtumswahrscheinlichkeit p liegt die t-Verteilung nach Student zugrunde (20).

1. Zusammenfassung

- 1.) Der Durchtritt von Ipodat-Na durch die Darmwand und seine Aufnahme ins Darmgewebe wurde an isolierten Darmsegmenten von Ratten in vitro (Methode nach Wilson and Wiseman bzw. nach Fisher and Parsons (1, 2)) untersucht. Die in vitro-Studien wurden durch Resorptionsuntersuchungen von Ipodat-Na aus abgebundenen Darmsegmenten in situ von Ratten komplettiert. Die Untersuchungen wurden mit radioaktiv markierter ^{125}J -(Ipodat-Na) durchgeführt.
- 2.) Die Konzentrationsabhängigkeit des Durchtritts von Ipodat-Na wurde in einem Bereich von $1,6 \times 10^{-6}$ bis $9,6 \times 10^{-4}$ M untersucht. Dabei wird zwischen der Serosa- und der Mucosaseite bei Angebot niedriger Ipodat-Na-Konzentrationen (10^{-5} M) ein Konzentrationsgradient für die ^{125}J -Radioaktivität errichtet. Der S/M Quotient betrug bei Jejunumsegmenten 1,5, bei Ileumsegmenten sogar 2,3. In der umgekehrten Richtung von der Serosa- zur Mucosaseite wird beim Durchtritt von Ipodat-Na am Versuchsende kein Konzentrationsgradient für die ^{125}J -Radioaktivität beobachtet.

Mit weiter steigender Konzentration von Ipodat-Na auf der Mucosaseite über 10^{-5} M hinaus nimmt die Konzentration in der Serosaflüssigkeit proportional zur angebotenen Konzentration zunächst zu. Jenseits von 10^{-4} M nimmt die Konzentration der ^{125}J -Radioaktivität in der Serosaflüssigkeit jedoch wieder ab.

In der umgekehrten Richtung von der Serosa- zur Mucosaseite erreicht der Transfer der ^{125}J -Radioaktivität nur etwa $1/3$ der Werte, die von der Mucosa- zur Serosaseite gemessen wurden. Der Durchtritt von Ipodat durch die Darmwand erfolgt in dieser Richtung proportional der angebotenen Konzentration; nur in den höchsten geprüften Konzentrationen deutet sich eine Verminderung des Durchtritts an.

- 3.) Ipodat wird im Mucosagewebe angereichert. Der Grad der Anreicherung ist bei Jejunum- und Ileumsegmenten etwa gleich groß. Der Anreicherungsgrad ist auch weitgehend unabhängig davon, ob Ipodat-Na von der Mucosa- oder von der Serosaseite aus angeboten wird. Mit steigenden Ipodat-Na-Konzentrationen nimmt die ins Gewebe aufgenommene Menge der ^{125}J -Radioaktivität ab.
- 4.) Ipodat-Na hemmt den Bergauf-Transport von Glucose. Normalerweise wird zwischen der Serosa- und der Mucosaseite von "everted-sac"-Präparaten des Jejunums bei Ratten ein Konzentrationsgradient von Glucose errichtet; der S/M-Quotient beträgt 2,5 - 3. Bei einer Ipodat-Na-Konzentration von $3,1 \times 10^{-6} \text{ M}$ an ist die Glucosekonzentration in der Serosaflüssigkeit statistisch signifikant erniedrigt. Von einer Ipodat-Na-Konzentration von $6,4 \times 10^{-4} \text{ M}$ an wird zwischen der Serosa- und der Mucosaseite der Jejunumsegmente kein Konzentrationsgradient für Glucose mehr errichtet.

- 5.) Durchtritt und Aufnahme ins Darmgewebe von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ unterscheiden sich von demjenigen von ^{125}J -Ipodat erheblich. Im geprüften Konzentrationsbereich von $6,6 \times 10^{-8}$ bis 10^{-4} M ergibt sich keine Konzentrationsabhängigkeit des Transfers und der Aufnahme ins Gewebe von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$. $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ wird umgekehrt wie $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ bevorzugt von der Serosa- zur Mucosaseite transferiert. Die Aufnahme von ^{125}J -Radioaktivität ins Mucosagewebe ist von der Serosaseite aus höher als bei Angebot auf der Mucosaseite der Darmsegmente.
- 6.) Die Untersuchung der Resorption von ^{125}J (Ipodat-Na) aus abgebundenen Jejunum-Segmenten in situ von Ratten ergibt eine rasche und nahezu vollständige Resorption des Stoffes. Ein Teil der resorbierten ^{125}J -Aktivität wird mit der Galle wieder ausgeschieden. Der Anteil der ^{125}J -Radioaktivität in der Galle an der gesamten resorbierten ^{125}J -Dosis beträgt fast 50 % bei einer Dosis von 200 nMol und sinkt auf fast 40 % ab bei einer Dosis von 30 μMol $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$. Der Grad der Anreicherung der ^{125}J -Radioaktivität in der Galle gegenüber dem Blutplasma bewegt sich zwischen dem 66- und 180-fachen
- 7.) Der Durchtritt von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ durch die Darmwand isolierter Darmsegmente in vitro ist temperaturabhängig. Das trifft gleichermaßen für Jejunum- und Ileumsegmente zu. Unterhalb einer Temperatur der Inkubationslösung von 25°C wird zwischen der Serosa- und der Mucosaseite kein Konzentrationsgradient der ^{125}J -Radioaktivität (10^{-5} M) mehr errichtet. Die Geschwindigkeit der Aufnahme von ^{125}J -Radioaktivität in das Darmgewebe

ist bei niedrigen Temperaturen verringert. Die Gesamtaufnahme der ^{125}J -Radioaktivität ins Darmgewebe ist bei niedrigen Temperaturen jedoch nur wenig beeinflusst. Die niedrigste geprüfte Temperatur in dieser Versuchsanordnung war 5°C .

- 8.) An isolierten, nicht durchbluteten Jejunumsegmenten von Ratten (Methode nach Fisher and Parsons (2)) wurde nachgewiesen, daß Ipodat während des Transfers durch die Darmwand metabolisch verändert wird. Nach 2-stündiger Perfusion der Darmsegmente lagen nur noch 24 % der ^{125}J -Radioaktivität als unverändertes ^{125}J -(Ipodat) vor, das zwischen pH 6,5 und 7 aus der wässrigen Phase mit Äther extrahiert werden kann. 68 % der gesamten im Resorbat vorhandenen ^{125}J -Radioaktivität verblieben in der wässrigen Phase. Wird die Temperatur in der Durchströmungsflüssigkeit der Darmsegmente auf 7°C gesenkt, dann vermindert sich der Anteil der ^{125}J -Radioaktivität in der wässrigen Phase des Resorbats auf 7 %. Diese Verteilung der Anteile von unverändertem und metabolisiertem ^{125}J -(Ipodat) im Resorbat wurde bei Angebot von Ipodat in einer Konzentration von 10^{-5} M gefunden.

Bei Angebot von hohen Ipodat-Konzentrationen (10^{-3} M) sinkt der Anteil der ^{125}J -Radioaktivität in der wässrigen Phase auf 2 % der gesamten ^{125}J -Radioaktivität im Resorbat ab. Offensichtlich hemmt Ipodat in hohen Konzentrationen nicht nur die Stoffwechselvorgänge, die für den Bergauf-Transport von Glucose und die Wasserresorption, sondern auch diejenigen, die für seine eigene Metabolisierung von Bedeutung sind.

- 9.) Die Inkubation der nach Extraktion des unveränderten Ipodats mit Ather zurückbleibenden wässrigen Phase mit β -Glucuronidase ergab, daß es sich bei den Metaboliten des z.T. wenigstens partiell dejodierten Ipodats um Glucuronidkonjugate handelt. Die Inkubation der wässrigen Phase mit Natronlauge läßt den Schluß zu, daß mit hoher Wahrscheinlichkeit das Ester-Glucuronid des (partiell dejodierten) Ipodats gebildet wird. Es ist nicht auszuschließen, daß in der wässrigen Phase auch Sulfatkonjugate des (partiell dejodierten) Ipodats existieren. Die Reste der in der wässrigen Phase zurückgebliebenen ^{125}J -Radioaktivität, hinter denen sich möglicherweise andere Metabolite als Konjugate verbergen, waren geringer als 1 %.
- 10.) Ein Teil der ^{125}J -Radioaktivität im Resorbat der isolierten Darmsegmente in vitro liegt als ^{125}J -(Jodid) vor, das mit AgNO_3 fällbar ist. Bei Angebot niedriger Konzentrationen (10^{-5} M) beträgt der ^{125}J -(Jodid)-Anteil 7 - 8 % an der gesamten ^{125}J -Radioaktivität im Resorbat. Dieser Anteil sinkt bei Angebot hoher Konzentrationen (10^{-3} M) auf 1 % ab. Die Bildung freien ^{125}J -(Jodids) beim Durchtritt von ^{125}J -(Ipodat-Na) durch die Darmwand wird bei niedrigen Temperaturen der Inkubationsflüssigkeit der isolierten Darmsegmente verringert. Die Bildung freien ^{125}J -(Jodids) setzt offenbar den Kontakt mit lebensfähigem (Darm)Gewebe voraus.
- 11.) Nach den hier vorgelegten Ergebnissen läßt sich der Transfer von Ipodat durch die Darmwand folgendermaßen erklären: Das im Milieu des Darmlumens (pH 6,5 - 7) lipophile Ipodat gelangt per diffusionem in die Mucosazelle und wird dort,

wenigstens bei Angebotskonzentrationen $< 10^{-4}$ M stoffwechselabhängig zum größten Teil in polare (Glucuronid-) Konjugate übergeführt. Die Konjugate verlassen die Mucosazelle rasch, mit hoher Wahrscheinlichkeit sowohl zur Mucosa- wie zur Serosaseite hin in gleichem Umfang. Dabei muß offen bleiben, ob die Konjugate mit Hilfe eines stoffwechselabhängigen Transportprozesses die Mucosazellen verlassen. Bei Angebot hoher Iodat-Konzentrationen ($> 10^{-4}$ M) ist die Bildung von Konjugaten in den Mucosazellen des Darmes gehemmt. Bei diesen Konzentrationen ist, wenigstens am Darmsegment in vitro, auch der Bergauf-Transport von Glucose und die Wasserresorption eingeschränkt. Bei diesen hohen Konzentrationen sind Stoffwechselprozesse in den Mucosazellen gehemmt, und Iodat penetriert zum größten Teil unverändert durch die Darmwand. Ein Teil des Iodats wird bereits während des Durchtritts durch das Mucosaepithel dejodiert. Dementsprechend handelt es sich, bei dem auf der Serosaseite erscheinenden Iodat und seinen Konjugaten, wenigstens z. T., um partiell dejodierte Verbindungen.

Literaturverzeichnis

1. Wilson, T.H., Wiseman, G.:
The use of sacs of everted small intestine for the study of transference of substance from the mucosal to the serosal surface.
J. Physiol. (London) 123, 116 (1957)
2. Fisher, R.B., Parsons, D.S.:
A preparation of surviving rat small intestine for the study of absorption.
J. Physiol. (London) 110, 26 - 46 (1949)
3. Clark, R.E., Shipley, R.A.:
Thyroidal uptake of ^{131}J after iopanoic acid (Telepaque in 74 subjects).
J. Clin. Endocrinol. 17, 1008 - 1010 (1957)
4. Ogden, H.S., Sheline, G.E.:
The effect of Hypopaque and Telepaque on thyroid uptake of ^{131}J and plasma bound iodine.
J. Lab. Clin. Med. 54, 53 - 58 (1959)
5. Josting, D., Winne, D., Bock, K.W.:
Glucuronidation of Paracetamol, Morphine and 1-Naphtol in the rat intestine and in mucosal microsomes.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Pharmacol. Supplement 2, Vol. 293, R 48, 189 (1976)
6. Forth, W., Rummel, W.:
Gastrointestinal Absorption of Heavy Metals. p. 621
in: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics. Pharmacology of Intestinal Absorption: Gastrointestinal Absorption of Drugs. (Rummel, W., Forth, W., Eds.)
Pergamon Press, Oxford
Section 39 B, Vol. 2 (1975)

7. Handbook of Physiology, Section 6
Alimentary Canal, Vol. III, Intestinal Absorption
(Ch. F. Code, Ed.)
Am. phys. Society, Washington D.C. (1968)
8. Forth, W., Rummel, W.:
Beziehungen zwischen dem Durchtritt des Eisens durch die
Darmwand und seiner Bindung im Gewebe.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.
264, 230 - 232 (1969)
9. Forth, W., Rummel, W.:
Iron Absorption
Physiol. Rev., Vol. 53, No. 3, 724 - 792, July 1973
10. Diamond, J.M:
Standing gradient model of fluid transport in epithelia.
Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 30, 6 - 13 (1971)
11. Schulze, B., Kaps, H.P.:
Gerinnungshemmende Wirkungen trijodierter Röntgenkontrast-
mittel.
Arzneim.-Forsch. 27 (I), Nr. 5, 972 - 975 (1977)
12. Lauterbach, F.:
Intestinal secretion of organic ions and drugs, p.p. 173 - 193
in: Intestinal Permeation.
Excerpta Medica, Amsterdam - Oxford (1977)
13. Mudge, G.H.:
Uricosuric action of cholecystographic agents.
N. Engl. J. Med., Vol. 284, No. 17, 929 - 93 (1971)

14. Rummel, W., Stupp, F.H.:
Der Einfluß von Kalium und Calcium auf die Salz-, Glukose-
und Wasserresorption des isolierten Dünndarmes.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmakol. exp. Pathol. 240,
79 - 92 (1960)
15. Forth, W., Furukawa, E., Rummel, W.:
Intestinale Resorption von Herzglykosiden in vitro und in vivo.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmakol.
262, 53 - 72 (1969)
16. Seebald, H., Forth, W.:
Absorption of ^{14}C -Bumadizone-Ca and ^{14}C -Phenylbutazone in
Isolated Intestinal Segments in vitro and Tied-off Gastro-
intestinal Sections in vivo of Rats and Guinea Pigs.
Arzneim.-Forsch. 27 (1), 624 - 635 (1977)
17. Strugala, G.:
Intestinale Resorption von Clanobutin.
Staatsexamensarbeit, Abt. f. Biologie der Ruhr-Universität
Bochum (1977)
18. Pflieger, K.:
Methods for the Investigation in Animals. p.p. 797 - 817
in: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeu-
tics. Pharmacology of Intestinal Absorption: Gastrointestinal
Absorption of Drugs. (Rummel, W., Forth, W., Eds.)
Pergamon Press, Oxford
Section 39 B, Vol. 2 (1975)
19. Forth, W., Rummel, W.
Gastrointestinal Absorption of Heavy Metals, p. 663
in: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeu-
tics. Pharmacology of Intestinal Absorption: Gastrointestinal
Absorption of Drugs. (Rummel, W., Forth, W., Eds.)
Pergamon Press, Oxford
Section 39 B, Vol. 2 (1975)

20. Weber, E.:

Grundriß der biologischen Statistik, S. 327 - 342

6. Auflage

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1967,

7. Tabellenanhang

Tabelle 12

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro; Konzentrationsabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrodelösung; Inkubationsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C ;

Ipodat-Na und ^{125}J -(Ipodat-Na) wurden zu Beginn des Experiments nur der Außenlösung zugegeben (50000 Ipm/ml).

Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Jejunum, "everted sac"

Konzentration	Volumen	Resorbat Konz.	Menge	Gewebe
(M)	(ml)	(Ipm/ml)	(Ipm)	(Ipm/g Feuchtgewicht)
$1,6 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,62}{0,02}$	$\pm \frac{48428}{1837}$	<u>30025</u>	$\pm \frac{549904}{19493}$
$1,9 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,66}{0,02}$	$\pm \frac{49976}{3828}$	<u>32984</u>	$\pm \frac{411817}{39734}$
$2,3 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,69}{0,08}$	$\pm \frac{63923}{2982}$	<u>44106</u>	$\pm \frac{562551}{65168}$
$3,1 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,63}{0,02}$	$\pm \frac{53751}{1850}$	<u>33863</u>	$\pm \frac{421266}{31828}$
$3,3 \times 10^{-5}$	$\pm \frac{0,55}{0,06}$	$\pm \frac{61841}{3435}$	<u>34012</u>	$\pm \frac{412316}{3967}$
$3,2 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,71}{0,05}$	$\pm \frac{37951}{632}$	<u>26945</u>	$\pm \frac{241949}{25336}$
$6,4 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,56}{0,03}$	$\pm \frac{21733}{296}$	<u>12170</u>	$\pm \frac{181291}{31852}$
$9,6 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,55}{0,04}$	$\pm \frac{24056}{2733}$	<u>13230</u>	$\pm \frac{167345}{7758}$

Tabelle 12

Jejunum, "non everted sac "

Konzentration	Resorbat		Gewebe	
(M)	Volumen (ml)	Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	(Ipm/g Feuchtge- wicht)
$1,6 \times 10^{-6}$	$\frac{0,45}{\pm 0,04}$	$\frac{14419}{\pm 1620}$	<u>6488</u>	$\frac{397840}{\pm 28285}$
$1,9 \times 10^{-6}$	$\frac{0,47}{\pm 0,03}$	$\frac{20413}{\pm 1889}$	<u>9594</u>	$\frac{550868}{\pm 82801}$
$2,3 \times 10^{-6}$	$\frac{0,68}{\pm 0,02}$	$\frac{13610}{\pm 1070}$	<u>9254</u>	$\frac{468026}{\pm 76550}$
$3,1 \times 10^{-6}$	$\frac{0,58}{\pm 0,04}$	$\frac{16517}{\pm 2902}$	<u>9579</u>	$\frac{326875}{\pm 20990}$
$3,3 \times 10^{-5}$	$\frac{0,57}{\pm 0,04}$	$\frac{22760}{\pm 2711}$	<u>12973</u>	$\frac{213298}{\pm 12439}$
$3,2 \times 10^{-4}$	$\frac{0,31}{\pm 0,02}$	$\frac{20319}{\pm 2126}$	<u>6298</u>	$\frac{213511}{16385}$
$6,4 \times 10^{-4}$	$\frac{0,32}{\pm 0,01}$	$\frac{13557}{\pm 532}$	<u>4338</u>	$\frac{192282}{\pm 11960}$
$9,6 \times 10^{-4}$	$\frac{0,34}{\pm 0,02}$	$\frac{10183}{\pm 323}$	<u>3462</u>	$\frac{149007}{\pm 14248}$

Tabelle 12

Ileum, "everted sac"

Konzentration	Resorbat		Gewebe	
(M)	Volumen (ml)	Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	(Ipm/g Feuchtgewicht)
$1,6 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,66}{0,04}$	$\pm \frac{72669}{5130}$	$\frac{47961}{}$	$\pm \frac{499070}{62241}$
$1,9 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,68}{0,03}$	$\pm \frac{76024}{3218}$	$\frac{51696}{}$	$\pm \frac{399247}{33691}$
$2,3 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,72}{0,04}$	$\pm \frac{68956}{2534}$	$\frac{49648}{}$	$\pm \frac{303722}{18878}$
$3,1 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,71}{0,03}$	$\pm \frac{77991}{5084}$	$\frac{55373}{}$	$\pm \frac{301750}{18737}$
$3,3 \times 10^{-5}$	$\pm \frac{0,77}{0,03}$	$\pm \frac{59294}{2388}$	$\frac{45656}{}$	$\pm \frac{306297}{22621}$
$3,2 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,63}{0,01}$	$\pm \frac{41029}{7021}$	$\frac{25848}{}$	$\pm \frac{204962}{24897}$
$6,4 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,62}{0,03}$	$\pm \frac{22205}{1045}$	$\pm \frac{13767}{}$	$\pm \frac{92511}{2192}$
$9,6 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,57}{0,04}$	$\pm \frac{21131}{734}$	$\frac{12044}{}$	$\pm \frac{136398}{5004}$

Tabelle 12

Ileum, "non everted sac"

Konzentration	Resorbat		Gewebe	
(M)	Volumen (ml)	Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	(Ipm/g Feuchtgewicht)
$1,6 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,57}{0,03}$	$\pm \frac{24325}{1689}$	<u>13865</u>	$\pm \frac{342798}{18677}$
$1,9 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,61}{0,02}$	$\pm \frac{25022}{2136}$	<u>15263</u>	$\pm \frac{309860}{32330}$
$2,3 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,745}{0,02}$	$\pm \frac{20832}{415}$	<u>15519</u>	$\pm \frac{233363}{11916}$
$3,1 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,77}{0,02}$	$\pm \frac{18491}{970}$	<u>14238</u>	$\pm \frac{238744}{10785}$
$3,3 \times 10^{-6}$	$\pm \frac{0,77}{0,02}$	$\pm \frac{24783}{1054}$	<u>19082</u>	$\pm \frac{202753}{4821}$
$3,2 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,45}{0,03}$	$\pm \frac{24654}{3007}$	<u>11094</u>	$\pm \frac{350528}{16830}$
$6,4 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,38}{0,02}$	$\pm \frac{18532}{1657}$	<u>7042</u>	$\pm \frac{170157}{13110}$
$9,6 \times 10^{-4}$	$\pm \frac{0,43}{0,01}$	$\pm \frac{13608}{514}$	5851	$\pm \frac{129442}{6618}$

Tabelle 13

Einfluß der ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration auf den Glucose-transport an evertierten Jejunumsegmenten in vitro.

Gemessen wurde die Glucosekonzentration pro 100 ml Resorbat. Zu Beginn des Experimentes betrug die Glucosekonzentration in der Innen- wie in der Außenlösung 270 mg %. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

^{125}J -(Ipodat-Na) Konzentration (M)	Glucosekonzentration (mg %)
$1,6 \times 10^{-6}$	<u>664</u> ± 34
$1,9 \times 10^{-6}$	<u>605</u> ± 28
$2,3 \times 10^{-6}$	<u>651</u> ± 24
$3,1 \times 10^{-6}$	<u>523</u> * ± 51
$3,3 \times 10^{-5}$	<u>488</u> * ± 20
$3,2 \times 10^{-4}$	<u>364</u> * ± 26
$6,4 \times 10^{-4}$	<u>232</u> * ± 102
$9,6 \times 10^{-4}$	<u>196</u> * ± 18

Transfer von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro;
Zeitabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrodelösung; Temperatur: 37°C ; $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ -Konzentration in der Inkubationslösung zu Beginn des Experimentes in der Außenlösung und in der Innenlösung: $10^{-5}\text{ M} \sim 50000\text{ Ipm/ml}$.
Gemessen wurde am Versuchsende die ^{125}J -Aktivität pro ml Inkubationslösung, pro ml Resorbat und pro g Darmfeuchtgewicht. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 4 - 6 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Jejunum

Inkubationszeit	Endwerte	Volumen	Resorbat	Menge	Gewebe
(min)	(Ipm/ml)	(ml)	Konz. (Ipm/ml)	(Ipm)	(Ipm/g Feuchtgewicht)
"everted sac"					
20	<u>44230</u> + 3107	<u>0,64</u> +0,01	<u>26616</u> + 934	<u>17034</u>	<u>406972</u> + 50622
40	<u>35946</u> + 1194	<u>0,64</u> +0,02	<u>30933</u> + 2996	<u>19797</u>	<u>506035</u> + 24076
60	<u>35292</u> + 5077	<u>0,66</u> +0,03	<u>45339</u> + 5515	<u>29923</u>	<u>473171</u> + 33350
120	<u>36313</u> + 945	<u>0,59</u> +0,02	<u>76799</u> + 3820	<u>45311</u>	<u>552473</u> + 10011
"non everted sac"					
20	<u>50526</u> + 1109	<u>0,46</u> +0,03	<u>18132</u> + 5676	<u>8340</u>	<u>260362</u> + 27041
40	<u>46857</u> + 1084	<u>0,43</u> +0,02	<u>12951</u> + 862	<u>5568</u>	<u>283993</u> + 24048
60	<u>50656</u> + 2280	<u>0,44</u> +0,03	<u>21779</u> + 3334	<u>9582</u>	<u>342919</u> + 28765
120	<u>45163</u>	<u>0,4</u>	<u>22580</u>	<u>9032</u>	<u>337944</u>

Tab. 14 Ileum

Inkubationszeit (min)	Endwerte (Ipm/ml)	Volumen (ml)	Resorbat Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	Gewebe (Ipm/g Feuchtwicht)
"everted sac"					
20	<u>44926</u> + 619	<u>0,6</u> +0,05	<u>34394</u> + 592	<u>20636</u>	<u>351977</u> + 34567
40	<u>41704</u> + 3682	<u>0,65</u> +0,06	<u>61536</u> + 6331	<u>39998</u>	<u>477326</u> + 28878
60	<u>36612</u> + 1184	<u>0,7</u> +0,03	<u>97948</u> + 5490	<u>68563</u>	<u>476739</u> + 22016
120	<u>31993</u> + 983	<u>0,72</u> +0,05	<u>115982</u> + 7692	<u>83507</u>	<u>430772</u> + 21778
"non everted sac"					
20	<u>48155</u> + 400	<u>0,55</u> +0,04	<u>16273</u> + 469	<u>8950</u>	<u>203782</u> + 50186
40	<u>55709</u> + 3283	<u>0,5</u> +0,03	<u>16964</u> + 923	<u>8482</u>	<u>243759</u> + 9388
60	<u>50877</u> + 1825	<u>0,31</u> +0,07	<u>27095</u> + 2962	<u>8399</u>	<u>280096</u> + 26285
120	<u>48917</u> + 2002	<u>0,44</u> +0,03	<u>31258</u> + 2377	<u>13753</u>	<u>265661</u> + 21131

Tab. 15

Transfer von ^{125}J -(NaJ) an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro: Konzentrationsabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrodelösung; Inkubationsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C . Zu Beginn des Experimentes enthielt die Innen- und die Außenlösung NaJ, während ^{125}J -(NaJ) nur der Außenlösung zugesetzt wurde (50000 Ipm/ml). Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 4 - 8 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Jejunum

Konzentration (M)	Volumen (ml)	Resorbat Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)-	Gewebe (Ipm/g Feuchtgewicht)
"everted sac"				
$6,6 \times 10^{-8}$	<u>0,73</u>	<u>33700</u>	<u>24601</u>	<u>16551</u>
	$\pm 0,03$	± 815		± 601
$3,3 \times 10^{-7}$	<u>0,77</u>	<u>29913</u>	<u>23033</u>	<u>16429</u>
	$\pm 0,04$	± 513		± 981
10^{-6}	<u>0,7</u>	<u>27079</u>	<u>18955</u>	<u>13288</u>
	$\pm 0,03$	± 1175		± 1015
10^{-5}	<u>0,7</u>	<u>31384</u>	<u>21968</u>	<u>8015</u>
	$\pm 0,02$	± 685		± 1023
10^{-4}	<u>0,72</u>	<u>33688</u>	<u>24255</u>	<u>2077</u>
	$\pm 0,04$	± 552		± 983
"non everted sac"				
$6,6 \times 10^{-8}$	<u>0,46</u>	<u>42172</u>	<u>19399</u>	<u>22610</u>
	$\pm 0,03$	± 1330		± 1458
$3,3 \times 10^{-7}$	<u>0,41</u>	<u>35197</u>	<u>14430</u>	<u>20335</u>
	$\pm 0,09$	± 1560		± 1037
10^{-6}	<u>0,4</u>	<u>39833</u>	<u>15933</u>	<u>19457</u>
	$\pm 0,02$	± 2473		± 1894
10^{-5}	<u>0,33</u>	<u>39506</u>	<u>13036</u>	<u>20747</u>
	$\pm 0,03$	± 3374		± 2360
10^{-4}	<u>0,4</u>	<u>35677</u>	<u>14270</u>	<u>17710</u>
	$\pm 0,03$	± 1793		± 1173

Tab. 15

Ileum

Konzentration (M)	Volumen (ml)	Resorbat Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	Gewebe (Ipm/g Feuchtgewicht)
"everted sac"				
$6,6 \times 10^{-8}$	<u>0,72</u> + 0,02	<u>37421</u> + 987	<u>26943</u>	<u>18484</u> + 527
$3,3 \times 10^{-7}$	<u>0,85</u> + 0,04	<u>36501</u> + 1096	<u>31025</u>	<u>20358</u> + 1122
10^{-6}	<u>0,75</u> + 0,03	<u>31276</u> + 1197	<u>23457</u>	<u>17785</u> + 677
10^{-5}	<u>0,85</u> + 0,06	<u>34330</u> + 767	<u>29180</u>	<u>17424</u> + 1537
10^{-4}	<u>0,88</u> + 0,05	<u>29289</u> + 2974	<u>25774</u>	<u>14543</u> + 1095
"non everted sac"				
$6,6 \times 10^{-8}$	<u>0,46</u> + 0,02	<u>37182</u> + 758	<u>17103</u>	<u>18162</u> + 908
$3,3 \times 10^{-7}$	<u>0,45</u> + 0,01	<u>37074</u> + 801	<u>16683</u>	<u>19103</u> + 682
10^{-6}	<u>0,53</u> + 0,03	<u>38003</u> + 1046	<u>20141</u>	<u>24448</u> + 1434
10^{-5}	<u>0,51</u> + 0,02	<u>33240</u> + 1153	<u>16952</u>	<u>20905</u> + 1886
10^{-4}	<u>0,51</u> + 0,02	<u>33015</u> + 1180	<u>16837</u>	<u>16006</u> + 355

Transfer von $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro;
Zeitabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrodelösung; Temperatur: 37°C ; $^{125}\text{J}-(\text{NaJ})$ -
Konzentration zu Beginn des Experimentes in der Außen- und in der Innenlösung: $3,3 \times 10^{-7}\text{ M} \sim 50000\text{ Ipm/ml}$.

Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die Zahlenangaben
sind Mittelwerte aus 3 - 4 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Jejunum		Resorbat		Gewebe	
Inkubationszeit (min)	Volumen (ml)	Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	(Ipm/g Feuchtgewicht)	
"everted sac"					
20	$\frac{0,64}{\pm 0,006}$	$\frac{35759}{+ 909}$	$\frac{22885}{\pm 22885}$	$\frac{17225}{+ 932}$	
40	$\frac{0,64}{\pm 0,003}$	$\frac{37161}{+ 1366}$	$\frac{23783}{\pm 23783}$	$\frac{18924}{+ 6628}$	
60	$\frac{0,77}{\pm 0,01}$	$\frac{35843}{+ 962}$	$\frac{27599}{\pm 27599}$	$\frac{18689}{+ 802}$	
120	$\frac{0,82}{\pm 0,08}$	$\frac{35320}{+ 1770}$	$\frac{28962}{\pm 28962}$	$\frac{17522}{+ 751}$	
"non everted sac"					
20	$\frac{0,52}{\pm 0,03}$	$\frac{49811}{+ 1540}$	$\frac{25901}{\pm 25901}$	$\frac{22680}{+ 3361}$	
40	$\frac{0,5}{\pm 0,04}$	$\frac{47427}{+ 2121}$	$\frac{23713}{\pm 23713}$	$\frac{22639}{+ 1602}$	
60	$\frac{0,53}{\pm 0,04}$	$\frac{47958}{+ 3326}$	$\frac{25417}{\pm 25417}$	$\frac{25188}{+ 2805}$	
120	$\frac{0,37}{\pm 0,07}$	$\frac{64006}{+ 5883}$	$\frac{23682}{\pm 23682}$	$\frac{30008}{+ 1339}$	

Tab. 16 Ileum

Inkubationszeit (min)	Volumen (ml)	Resorbat Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	Gewebe (Ipm/g Feuchtgewicht)
"everted sac"				
20	<u>0,65</u> +0,03	<u>40200</u> + 579	<u>26130</u>	<u>16346</u> + 2267
40	<u>0,75</u> +0,03	<u>39295</u> + 1154	<u>29471</u>	<u>19138</u> + 618
60	<u>0,75</u> +0,03	<u>39578</u> + 1254	<u>29683</u>	<u>20022</u> + 692
120	<u>0,68</u> +0,08	<u>41817</u> + 632	<u>28435</u>	<u>19656</u> + 1059
"non everted sac"				
20	<u>0,52</u> +0,01	<u>44991</u> + 1650	<u>23395</u>	<u>27554</u> + 1248
40	<u>0,47</u> +0,06	<u>45877</u> + 1954	<u>21562</u>	<u>28552</u> + 1466
60	<u>0,51</u> +0,03	<u>48996</u> + 685	<u>24987</u>	<u>28034</u> + 2346
120	<u>0,39</u> +0,09	<u>49670</u> + 359	<u>19371</u>	<u>25217</u> + 2321

Tabelle 17

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an evertierten Jejunum- und Ileumsegmenten in vitro; Temperatur - Zeitabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrode-lösung; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration zu Beginn des Experimentes in der Innen- und Außenlösung: $10^{-5} \text{ M} \sim 50000 \text{ Ipm/ml}$. Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 6 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Jejunum - ^{125}J -Aktivität im Resorbat (Konzentration)

Temperatur ($^{\circ}\text{C}$):	37	25	15	5
Zeit (min.)	Ipm/ml			
20	<u>26616</u> ± 934	<u>29468</u> ± 561	<u>33615</u> ± 740	<u>33162</u> ± 1019
40	<u>30933</u> ± 2996	<u>23742</u> ± 1001	<u>30704</u> ± 454	<u>32536</u> ± 356
60	<u>45339</u> ± 5515	<u>25102</u> ± 726	<u>31440</u> ± 1077	<u>30190</u> ± 965
120	<u>76799</u> ± 3820	<u>42426</u> ± 4011	<u>27021</u> ± 464	<u>26025</u> ± 2083

Tabelle 17

Jejunum - ^{125}J -Aktivität im Resorbat (Menge)

Temp. ($^{\circ}\text{C}$):	37		25		15		5	
Zeit	Vol.	Ipm	Vol.	Ipm	Vol.	Ipm	Vol.	Ipm
(min)	(ml)		(ml)		(ml)		(ml)	
20	<u>0,64</u> $\pm 0,01$	<u>17034</u>	<u>0,61</u> $\pm 0,02$	<u>17975</u>	<u>0,61</u> $\pm 0,02$	<u>20505</u>	<u>0,57</u> $\pm 0,06$	<u>18902</u>
40	<u>0,64</u> $\pm 0,02$	<u>19797</u>	<u>0,57</u> $\pm 0,06$	<u>13533</u>	<u>0,61</u> $\pm 0,01$	<u>18729</u>	<u>0,66</u> $\pm 0,04$	<u>21472</u>
60	<u>0,66</u> $\pm 0,03$	<u>29923</u>	<u>0,61</u> $\pm 0,02$	<u>15312</u>	<u>0,56</u> $\pm 0,05$	<u>17606</u>	<u>0,63</u> $\pm 0,02$	<u>19019</u>
120	<u>0,59</u> $\pm 0,02$	<u>45311</u>	<u>0,6</u> $\pm 0,03$	<u>25455</u>	<u>0,6</u> $\pm 0,02$	<u>16212</u>	<u>0,57</u> $\pm 0,02$	<u>14834</u>

Ileum - ^{125}J -Aktivität im Resorbat (Menge)

20	<u>0,6</u> $\pm 0,05$	<u>20636</u>	<u>0,62</u> $\pm 0,08$	<u>18988</u>	<u>0,63</u> $\pm 0,01$	<u>23006</u>	<u>0,56</u> $\pm 0,04$	<u>22758</u>
40	<u>0,65</u> $\pm 0,06$	<u>39998</u>	<u>0,62</u> $\pm 0,01$	<u>17882</u>	<u>0,63</u> $\pm 0,02$	<u>19718</u>	<u>0,67</u> $\pm 0,01$	<u>24511</u>
60	<u>0,7</u> $\pm 0,03$	<u>68563</u>	<u>0,58</u> $\pm 0,03$	<u>20788</u>	<u>0,61</u> $\pm 0,01$	<u>16924</u>	<u>0,59</u> $\pm 0,05$	<u>20380</u>
120	<u>0,72</u> $\pm 0,05$	<u>83507</u>	<u>0,62</u> $\pm 0,01$	<u>39763</u>	<u>0,6</u> $\pm 0,04$	<u>20473</u>	<u>0,64</u> $\pm 0,01$	<u>22261</u>

Tabelle 17

Ileum - ^{125}J -Aktivität im Resorbat (Konzentration)

Temperatur ($^{\circ}\text{C}$):	37	25	15	5
Zeit (min)	Ipm/ml			
20	<u>34394</u> ± 592	<u>30626</u> ± 862	<u>36518</u> ± 805	<u>40640</u> ± 911
40	<u>61536</u> ± 6330	<u>28843</u> ± 785	<u>31299</u> ± 1022	<u>36585</u> ± 301
60	<u>97948</u> ± 5490	<u>35842</u> ± 1786	<u>27745</u> ± 860	<u>34543</u> ± 832
120	<u>115982</u> ± 7692	<u>64134</u> ± 3259	<u>34122</u> ± 1953	<u>35783</u> ± 972

Tabelle 17

Jejunum - ^{125}J -Aktivität im Gewebe

Temperatur ($^{\circ}\text{C}$):	37	25	15	5
Zeit (min)	Ipm/g Feuchtgewicht			
20	<u>406972</u> $\pm$ 50622	<u>379939</u> $\pm$ 18775	<u>296340</u> $\pm$ 13054	<u>261479</u> $\pm$ 51540
40	<u>506035</u> $\pm$ 24076	<u>442785</u> $\pm$ 39486	<u>500606</u> $\pm$ 9543	<u>463519</u> $\pm$ 48165
60	<u>473171</u> $\pm$ 33350	<u>552501</u> $\pm$ 30491	<u>440134</u> $\pm$ 38372	<u>370733</u> $\pm$ 55037
120	<u>552473</u> $\pm$ 10011	<u>607521</u> $\pm$ 24464	<u>651410</u> $\pm$ 46740	<u>776624</u> $\pm$ 31303

Tabelle 17

Ileum - ^{125}J -Aktivität im Gewebe

Temperatur ($^{\circ}\text{C}$)	37	25	15	5
Zeit (min)	Ipm/g Feuchtgewicht			
20	<u>351977</u> ± 34567	<u>251286</u> ± 11041	<u>351230</u> ± 54902	<u>151270</u> ± 12600
40	<u>477326</u> ± 28877	<u>387673</u> ± 28491	<u>410118</u> ± 48113	<u>310477</u> ± 16018
60	<u>476739</u> ± 22010	<u>438776</u> ± 45789	<u>328669</u> ± 11783	<u>386517</u> ± 14372
120	<u>430772</u> ± 21778	<u>452932</u> ± 136863	<u>366090</u> ± 114472	<u>427909</u> ± 25854

Tabelle 18

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an isolierten Jejunumsegmenten in vitro; Konzentrationsabhängigkeit.

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrode-lösung; Perfusionsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C ; ^{125}J -Aktivität zu Beginn des Experimentes in der Perfusionslösung: 100000 Ipm/ml. Gemessen wurde das Resorbatvolumen und die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die durch die Darmwand getretenen Mengen wurden durch Multiplikation der Resorbatvolumina mit den Konzentrationen von ^{125}J -(Ipodat-Na) pro ml Resorbat erhalten. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Konzentration (M)	Resorbat		Gewebe	
	Volumen (ml)	Konz. (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	(Ipm/g Feuchtgewicht)
10^{-5}	<u>2,05</u> $\pm 0,29$	<u>232110</u> ± 32513	<u>475825</u>	<u>413632</u> ± 33483
10^{-4}	<u>1,96</u> $\pm 0,11$	<u>204826</u> ± 10317	<u>401458</u>	<u>473683</u> ± 30919
10^{-3}	<u>0,5</u> $\pm 0,06$	<u>61577</u> ± 877	<u>30788</u>	<u>415450</u> ± 80621

Metabolische Umwandlung von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$ während des Transfers an isolierten Jejunumsegmenten;
 Konzentrationsabhängigkeit.

Methode: nach Fisher and Parsons; Perfusionsmedium: Tyrodelösung; Perfusionsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C . Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität in den einzelnen Phasen und in % der Gesamtmenge der wiedergefundenen Impulse angegeben. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Angebot von $^{125}\text{J}-(\text{Ipodat-Na})$: (M)	Resorbat				Gewebe			
	% Anteil der ^{125}J -Gesamtaktivität							
	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}		
Phase								
organisch	$\frac{24}{\pm 1,6}$	$\frac{28}{\pm 1,1}$	$\frac{97}{\pm 0,6}$	$\frac{89}{\pm 0,6}$	$\frac{93}{\pm 0,5}$	$\frac{98}{\pm 0,3}$		
anorganisch	$\frac{68}{\pm 0,5}$	$\frac{65}{\pm 1,9}$	$\frac{2}{\pm 0,3}$	$\frac{2}{\pm 0,5}$	$\frac{6}{\pm 0,4}$	$\frac{1,2}{\pm 0,4}$		
Präcipitat	$\frac{8}{\pm 0,2}$	$\frac{7}{\pm 0,8}$	$\frac{1}{\pm 0,2}$	$\frac{2}{\pm 0,2}$	$\frac{1}{\pm 0,1}$	$\frac{0,2}{\pm 0,1}$		

Tab.19

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an isolierten Jejunumsegmenten in vitro; Temperaturabhängigkeit.

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrode-lösung; Perfusionsdauer: 2 Stunden; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration zu Beginn des Experimentes in der Perfusionslösung: $3,2 \times 10^{-6} \text{ M}$ $\sim 100000 \text{ Ipm/ml}$. Gemessen wurde das Resorbatvolumen und die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die durch die Darmwand getretenen Mengen wurden durch Multiplikation der Resorbatvolumina mit den Konzentrationen von ^{125}J pro ml Resorbat erhalten. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Temp. (° C)	Resorbat		Gewebe	
	Volumen (ml)	Konzentration (Ipm/ml)	Menge (Ipm)	(Ipm/g Feuchtgewicht)
37	<u>2,0</u> $\pm 0,04$	<u>206082</u> ± 12694	<u>412164</u>	<u>709021</u> ± 47125
27	<u>1,3</u> $\pm 0,06$	<u>216702</u> ± 10230	<u>277378</u>	<u>680863</u> ± 23353
15	<u>0,1</u> $\pm 0,02$	<u>36986</u> ± 2863	<u>4438</u>	<u>1223650</u> ± 63968

Tab. 19

Metabolische Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transfers an isolierten Jejunumsegmenten; Temperaturabhängigkeit.

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrodelösung; Perfusionsdauer: 2 Stunden; ^{125}J -(Ipodat-Na)-Konzentration zu Beginn des Experimentes in der Perfusionslösung: $3,2 \times 10^{-6}$ M. Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität in den einzelnen Phasen und in % der wiederaufgefundenen Impulse angegeben. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 3 - 8 Einzelversuchen $\pm s_x$.

	Resorbat		Gewebe	
	% Anteil der wiederaufgefundenen		^{125}J -Aktivität	
Temperatur($^{\circ}\text{C}$):	37	27	37	27
Phase				15
organisch	$\frac{19}{+1,6}$	$\frac{44}{+2,3}$	$\frac{95}{+0,4}$	$\frac{95}{+0,6}$
anorganisch	$\frac{73}{+2}$	$\frac{51}{+2}$	$\frac{4}{+0,4}$	$\frac{4}{+0,5}$
Präzipitat	$\frac{8}{+0,1}$	$\frac{2}{+0,3}$	$\frac{1}{+0,05}$	$\frac{1}{+0,05}$

Tabelle 2o

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an evertierten Jejunumsegmenten
in vitro; Temperaturabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrodelösung;
Inkubationsdauer: 2 Std.; Ipodat-Na und ^{125}J -(Ipodat-Na) wurden zu
Beginn des Experimentes nur der Außenlösung zugegeben, $3,2 \times 10^{-6} \text{ M}$
 $\sim 100000 \text{ Ipm/ml}$. Gemessen wurde die ^{125}J -Aktivität pro ml Resorbat
bzw. pro g Darmfeuchtgewicht. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus
5 - 7 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Temperatur (° C)	ml	Resorbat		Gewebe
		Konz.	Menge	
		(Ipm/ml)	(Ipm)	(Ipm/ml Feuchtgewicht)
37	<u>0,88</u>	<u>123102</u>	<u>108329</u>	<u>609034</u>
	<u>$\pm 0,04$</u>	<u>± 6600</u>		<u>± 30932</u>
7	<u>0,64</u>	<u>41693</u>	<u>26683</u>	<u>629302</u>
	<u>$\pm 0,02$</u>	<u>± 10409</u>		<u>± 59982</u>

Tab. 2o

Metabolische Umwandlung von ^{125}J -(Ipodat-Na) während des Transfers an evertierten Jejunumsegmenten in vitro; Temperaturabhängigkeit.

Methode: nach Wilson and Wiseman (1); Inkubationsmedium: Tyrodelösung; Inkubationsdauer: 2 Std. Ipodat-Na und ^{125}J -(Ipodat-Na) wurden zu Beginn des Experimentes nur der Außenlösung zugegeben, $3,2 \times 10^{-6} \text{ M} \sim 10000 \text{ Ipm/ml}$. Die in den einzelnen Phasen enthaltene ^{125}J -Aktivität wurde gemessen und in % der insgesamt wiedergefundenen Impulse angegeben. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 5 - 7 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Phase	Resorbat		Gewebe	
	% der wiedergefundenen		^{125}J -Aktivität	
	37° C	7° C	37° C	7° C
organisch	<u>33</u>	<u>87</u>	<u>95</u>	<u>99,7</u>
	$\pm 1,4$	$\pm 2,9$	$\pm 0,5$	$\pm 0,04$
anorganisch	<u>57</u>	<u>7</u>	<u>4</u>	<u>0,2</u>
	± 1	$\pm 1,2$	$\pm 0,4$	$\pm 0,03$
Präzipitat	<u>10</u>	<u>6</u>	<u>1</u>	<u>0,1</u>
	$\pm 0,6$	$\pm 1,8$	$\pm 0,1$	$\pm 0,01$

Tabelle 21

Inkubation der wässrigen Phase des Resorbates mit β -Glucuronidase und mit NaOH.

Methode: nach Fisher and Parsons (2); Perfusionsmedium: Tyrode-lösung; Perfusionsdauer: 2 Std.; Temperatur: 37°C ; ^{125}J -(Ipodat-Na) Konzentration: 10^{-6} M . 0,5 ml wässriger Phase wurden mit 3 E. β -Glucuronidase EC 3.2.1.31 bei pH 4,5 und 38°C bzw. mit 0,2 ml 1 n NaOH bei 20°C wiederholt inkubiert und bei pH 6 mit Äther extrahiert.

Gemessen wurden die ^{125}J -Konzentration im Ätherextrakt und in % der wiedergefundenen ^{125}J -Aktivität angegeben. Die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 2 - 4 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Inkubationszeit (min)	^{125}J -Aktivität im Ätherextrakt (% der wiedergefundenen Radioaktivität)	
	β -Glucuronidase	NaOH
15	-	<u>80,2</u> $\pm 3,7$
30	<u>51</u> $\pm 5,8$	<u>12,4</u> $\pm 2,8$
45	<u>15</u> $\pm 1,8$	<u>3,3</u> $\pm 0,7$
60	<u>9</u> $\pm 1,1$	<u>1</u> $\pm 0,2$
75	<u>9,5</u> $\pm 0,5$	<u>0,5</u> ± 0
90	<u>6,1</u> ± 1	-

Tabelle 21

Inkubationszeit (min)	^{125}J -Aktivität im Atherextrakt (% der wiederaufgefundenen Radio- aktivität)
--------------------------	--

β -Glucuronidase

105	<u>2,2</u> $\pm$ 0,5
120	<u>1,7</u> $\pm$ 0,3
135	<u>1,1</u> $\pm$ 0,2
150	<u>0,6</u> $\pm$ 0,06
165	<u>0,8</u> $\pm$ 0,07

Tab. 22

Transfer von ^{125}J -(Ipodat-Na) an abgebundenen Jejunumschlingen in situ; Konzentrations - Zeitabhängigkeit.

2 ml Tyrodelösung wurden in die 20 cm langen Darmschlingen injiziert. Das ^{125}J -(Ipodat-Na) war der Tyrodelösung in den unten angegebenen Konzentrationen zugesetzt worden. Die resorbierte Menge wurde aus der Differenz der zu Versuchsbeginn injizierten ^{125}J -Aktivität und der am Versuchsende im Darmlumen und im Zentrifugat des Darmgewebes wiedergefundenen Radioaktivität berechnet. die Zahlenangaben sind Mittelwerte aus 2 - 4 Einzelversuchen $\pm s_{\bar{x}}$.

Konzentration	resorbierte Menge - % der gesamt injizierten ^{125}J -Aktivität		
(M)	5 min	10 min	20 min
10^{-4}	$\frac{40}{\pm 1,1}$	$\frac{69}{\pm 3,2}$	$\frac{83}{\pm 0,9}$
5×10^{-4}	$\frac{57}{\pm 2,3}$	$\frac{64}{\pm 0,8}$	$\frac{84}{\pm 1,2}$
10^{-3}	$\frac{44}{\pm 1,9}$	$\frac{72}{\pm 3,6}$	$\frac{87}{\pm 1,7}$
5×10^{-3}	$\frac{46}{\pm 1,4}$	$\frac{61}{\pm 2,9}$	$\frac{84}{\pm 7}$

Tab. 23

Der zeitliche Verlauf der Resorption von Wasser und des Bergauf-
transports von Glucose an isoliert durchströmten Jejunumsegmenten
in vitro.

Methode nach Fisher and Parsons (2); Durchströmungsflüssigkeit:
Tyrodelösung; Temperatur: 37°C ; Glucosekonzentration: $15\text{ }\mu\text{M/ml}$;
Länge der Darmsegmente: $11,2 \pm 0,9\text{ cm}$.

Die Flüssigkeitsvolumina sowie die Glucosekonzentrationen im
Resorbat wurden nach jeder Sammelperiode bestimmt.

Die Zahlenangaben sind Mittelwerte von 8 Darmsegmenten $\pm s_{\bar{x}}$.

Zeit (min)	resorbierte Flüssigkeit (ml)	Glucosekonzentration ($\mu\text{M/ml}$)
30	$\frac{0,45}{\pm 0,06}$	$\frac{38}{\pm 7}$
60	$\frac{0,43}{\pm 0,07}$	$\frac{46}{\pm 9}$
120	$\frac{0,83}{\pm 0,04}$	$\frac{43}{\pm 3}$
180	$\frac{0,8}{\pm 0,09}$	$\frac{40}{\pm 4}$

Lebenslauf

Am 14. Juni 1950 wurde ich als Sohn des Schlossers Hermann Komp und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Schmidt, in Bochum geboren. Im Frühjahr 1956 wurde ich in Wattenscheid eingeschult. Im Mai 1960 bestand ich die Reifeprüfung am städtischen Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Gymnasium der Stadt Wattenscheid.

Meine Ausbildung als Apothekerpraktikant begann am 1.7.1968 in der Westfalen-Apotheke zu Bochum-Hordel. Nach der pharmazeutischen Vorprüfung am 30.6.1970 nahm ich zum WS 1970/71 das Pharmaziestudium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt/Main auf. Die pharmazeutische Prüfung legte ich am 30.1.1974 ab. In der Zeit vom 1.2. bis 31.7.1974 war ich in diversen Apotheken in Frankfurt und Bochum als Apotheker beschäftigt.

Am 1.8.1974 erhielt ich eine wissenschaftliche Hilfskraftstelle am Pharmakologischen Institut der Ruhr-Universität Bochum. Herr Prof. Dr. W. Forth stellte mir das Thema der vorliegenden Dissertation. Die experimentellen Arbeiten wurden in der Zeit von August 1974 - September 1977 durchgeführt.

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren:

Bock, Hoffmann, Janecke, Linde, Müser, Oelschläger,
Schneider, Thoma und Wiegrebe.

